Postverlagsort Berlin

ZEITSCHRIFT FÜR ZELLFORSCHUNG UND MIKROSKOPISCHE ANATOMIE

HERAUSGEGEBEN UND REDIGIERT VON

W. BARGMANN
KIEL

B. SCHARRER
NEW YORK

J. SEILER
ZÜRICH

53. BAND, 3. HEFT

MIT 96 TEXTABBILDUNGEN

(ABGESCHLOSSEN AM 16. JANUAR 1961)

SPRINGER-VERLAG
BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG
1961

Z. Zellforsch.

Preis DM 44.80

Zeitschrift für Zellforschung und mikroskopische Anatomie

Begründet 1924 unter dem Titel: Zeitschrift für Zellen- und Gewebelehre. Redigiert von *R. Goldschmidt* und *W. von Möllendorff*. Bd. 2—28 (1938). Zeitschrift für Zellforschung und mikroskopische Anatomie. (Bd. 1—20), 1934 als: Zeitschrift für wissenschaftliche Biologie Abteilung B) herausgegeben von *R. Goldschmidt, W. von Möllendorff, H. Bauer, J. Seiler*. Bd. 29—33 (1944) Zeitschrift für Zellforschung und mikroskopische Anatomie Abteilung A. Allgemeine Zellforschung und mikroskopische Anatomie. Herausgegeben und redigiert von *W. von Möllendorff* und *J. Seiler*, Berlin, Springer. Bd. 34—35 (1948—1950) Springer, Wien, ab Bd. 36 Springer, Berlin, ab Bd. 34 ohne den Untertitel Abteilung A, Allgemeine Zellforschung usw.

Ab Bd. 2 (1925) mit dem Untertitel: Fortsetzung des SCHULTZE-WALDEYER-HERTWIGschen Archivs für mikroskopische Anatomie. [Dieses wurde begründet 1864. Bd. 1—13 (1876) herausgegeben von *Max Schultze*; Bd. 13, Heft 4, bis Bd. 35 (1890) herausgegeben von *v. La Valette St. George, W. Waldeyer*; Bd. 36—43 (1894) herausgegeben von *O. Hertwig, v. La Valette St. George, W. Waldeyer*. Ab Bd. 44 als Archiv f. mikroskopische Anatomie und Entwicklungsgeschichte, ab Bd. 77—95 (1910—1922) in 2 Abteilungen. Bd. 1—95, Bonn, Cohen. Ab Bd. 96 Berlin, Springer. Fortsetzung Bd. 98—104 (1923—1925) Archiv für mikroskopische Anatomie und Entwicklungsmechanik. Herausgegeben von *W. Roux, H. Braus, H. Spemann*.]

Die Zeitschrift für Zellforschung und mikroskopische Anatomie steht Originalarbeiten aus dem Gesamtgebiet der beschreibenden und experimentellen Zellen- und Gewebelehre sowie dem Gebiet der mikroskopischen Anatomie des Menschen und der Tiere offen, wobei Arbeiten mit funktionellem und experimentellem Inhalt bevorzugt werden.

Arbeiten karyologischen Inhalts werden an die Zeitschrift „Chromosoma", Arbeiten zur histochemischen und histophysikalischen Grundlagenforschung, insbesondere ihrer Methodik, an die Abteilung „Histochemie" weitergeleitet.

Die Zeitschrift erscheint zur Ermöglichung rascher Veröffentlichung zwanglos in einzeln berechneten Heften, die zu Bänden vereinigt werden.

Grundsätzlich dürfen nur Arbeiten eingereicht werden, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind. Der Autor verpflichtet sich, sie auch nachträglich nicht an anderer Stelle zu publizieren. Mit der Annahme des Manuskriptes und seiner Veröffentlichung durch den Verlag geht das Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder einschließlich des Rechts der fotomechanischen Wiedergabe oder einer sonstigen Vervielfältigung an den Verlag über. Jedoch wird gewerblichen Unternehmen für den innerbetrieblichen Gebrauch nach Maßgabe des zwischen dem Börsenverein des Deutschen Buchhandels e.V. und dem Bundesverband der Deutschen Industrie abgeschlossenen Rahmenabkommens die Anfertigung einer fotomechanischen Vervielfältigung gestattet. Wenn für diese Zeitschrift kein Pauschalabkommen mit dem Verlag vereinbart worden ist, ist eine Wertmarke im Betrage von DM 0.30 pro Seite zu verwenden. *Der Verlag läßt diese Beträge den Autorenverbänden zufließen.*

Bei Arbeiten aus Instituten ist eine Erklärung des Direktors oder eines Abteilungsleiters beizufügen, daß er mit der Publikation der Arbeit aus dem Institut bzw. der Abteilung einverstanden ist und den Verfasser auf die Aufnahmebedingungen aufmerksam gemacht hat.

Die Mitarbeiter erhalten von ihrer Arbeit zusammen 75 Sonderdrucke unentgeltlich.

Alle Manuskripte sind zu senden und Anfragen zu richten an:

Prof. Dr. W. Bargmann, Kiel, Anatomisches Institut der Universität, Neue Universität, Eingang F 1,

Prof. Dr. Berta Scharrer, Albert Einstein College of Medicine, Dept. of Anatomy, Eastchester Road and Morris Park Avenue, New York 61, N.Y., USA,

Prof. Dr. J. Seiler, Zürich 6, Sonneggstr. 45.

Springer-Verlag

Berlin-Wilmersdorf, Heidelberger Platz 3, Fernsprecher 830301, Fernschreibnummer 01-83319
Heidelberg, Neuenheimer Landstr. 28—30, Fernsprecher 27901, Fernschreibnummer 04-61723

53. Band — **Inhaltsverzeichnis** — 3. Heft

Seite

RÖHLICH, P., und A. KNOOP, Elektronenmikroskopische Untersuchungen an den Hüllen des N. ischiadicus der Ratte. Mit 7 Textabbildungen 299

RERABEK, J., Cell growth on Hydrophobic substrates. With 8 Figures in the Text . . 313

FLEISCHHAUER, K., Über Gefäßpaare im Gehirn der Katze. Mit 7 Textabbildungen . . . 323

DANNEEL, R., und H. SCHUMANN, Die Wirkung des Triäthylenmelamins (TEM) auf das Gewebe von Hühnerembryonen. Mit 7 Textabbildungen. 331

PETRY, G., Histotopographische und cytologische Studien an den Embryonalhüllen der Katze. Mit 45 Textabbildungen 339

WALTER, P., Die sensible Innervation des Lippen-Nasenbereiches von Rind, Schaf, Ziege, Schwein, Hund und Katze. Zur Frage der Zugehörigkeit von Empfindungsqualitäten zu bestimmten Rezeptoren des Tastsinnes. Mit 11 Textabbildungen . . . 394

MERKER, H.-J., Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die Fibrillogenese in der Haut menschlicher Embryonen. Mit 11 Textabbildungen 411

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in dieser Zeitschrift berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, daß solche Namen im Sinn der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.

Zeitschrift für Zellforschung 53, 299—312 (1961)

Aus dem Anatomischen Institut der Universität Kiel (Direktor: Prof. Dr. W. Bargmann)
und dem Histologisch-Embryologischen Institut der Medizinischen Universität Budapest
(Direktor: Prof. Dr. I. Törő)

ELEKTRONENMIKROSKOPISCHE UNTERSUCHUNGEN AN DEN HÜLLEN DES N. ISCHIADICUS DER RATTE*

Von

P. Röhlich und A. Knoop

Mit 7 Textabbildungen

(Eingegangen am 5. September 1960)

Der bindegewebigen Hülle der peripheren Nerven wurde lange Zeit nur eine mechanische Rolle zugeschrieben; so untersuchte man z. B. den Faserverlauf, die Faserzusammensetzung, die Veränderungen in verschiedenen Lebensaltern und bei pathologischen Zuständen. Neuerdings lenkten neurophysiologische und histophysiologische Untersuchungen die Aufmerksamkeit auf eine ganz andere Aufgabe der Nervenhüllen. Ihr Vorhandensein erschwert neurophysiologische Untersuchungen der Nervenfasern, da sie die Diffusion verschiedener Elektrolyte verlangsamt, die Aktionspotentiale verzerrt; deshalb ist man zur Untersuchung isolierter Nervenfasern übergegangen. Die physiologischen Experimente wiesen darauf hin, daß in der bindegewebigen Hülle des Nerven ein Element vorhanden sein muß, das als Diffusionsbarriere wirkt. (Ausführliche Literatur bei Röhlich 1955, Lehmann 1957, 1959.) Diese Annahme wird von morphologischer Seite durch die Untersuchungen von Lehmann (1953, 1957), Krnjević (1954) und Clara und Özer (1959) unterstützt. Die Autoren fanden, daß die Diffusion von Silbernitrat und verschiedenen Farbstoffen durch die Nervenhülle verlangsamt wird.

Es gelang uns, unabhängig von den erwähnten Autoren, nachzuweisen, daß das Eindringen von Tuschekörnchen und von verschiedenen Ionen in den Nerv durch Zellschichten an der inneren Oberfläche der bindegewebigen Hülle erschwert wird (Weiss und Röhlich 1954, Röhlich u. Weiss 1955). Da die Dicke der zellulären Schicht an dem N. isch. der Ratte nicht mehr als 1—2 μ beträgt, war es notwendig, die Zellschichten mit weiteren Methoden zu untersuchen. Aus unseren histochemischen Untersuchungen (Röhlich 1956a) geht mit großer Wahrscheinlichkeit hervor, daß zwischen den Zellreihen eine Mukoproteide enthaltende Basalmembran eingeschaltet ist. Mit Hilfe der polarisationsoptischen Analyse konnten wir feststellen, daß die zelluläre Schicht der bindegewebigen Hülle lamellär gebaut ist und wahrscheinlich parallel zur Oberfläche orientierte Fibrillen enthält (Röhlich 1956b). Die feinere Struktur der Nervenhülle konnte aber nur mit dem Elektronenmikroskop genauer untersucht werden. (Ältere Literatur über das Perineurium bei Key und Retzius 1876, die neueste bei Lehmann 1959.)

* Durchgeführt mit Unterstützung durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft.

Material und Methoden

Wir untersuchten den N. isch. und seine Äste von adulten Ratten. In einer leichten Äthernarkose wurde der N. isch. freigelegt und in situ fixiert (isotonische 1%ige Osmiumtetroxydlösung nach Sjöstrand, p_H 7,4). Nach 5 min wurde ein 2—4 mm langer Nervenabschnitt entnommen und 3 Std bei + 4°C nachfixiert. Anschließend Auswaschen in Tyrode-Lösung, Dehydrierung in Äthylalkohol, Durchtränkung mit monomerem Methacrylatgemisch (1 Teil Methylmethacrylat und 5 Teile Butylmethacrylat, dazu 1% Benzoilperoxyd als Katalysator). Dauer der Polymerisation 6—10 Std bei 60°C. Die Blöcke wurden mit dem Porter-Blum-Mikrotom geschnitten (Glasmesser und Diamantmesser). Untersuchung der Schnitte mit dem Siemens-Elmiskop I, Vergrößerung 1500—6700, Nachvergrößerung bis zu einer Gesamtvergrößerung 1:55000.

An dieser Stelle möchten wir Herrn Prof. F. Hartmann von der Minnesota University, Minneapolis, USA, unseren besten Dank aussprechen für die Hilfe, die er uns durch das Anfertigen von Schnitten mit seinem Diamantmesser leistete.

Befunde

Die größeren Nerven sind, wie bekannt, im allgemeinen aus Faserbündeln aufgebaut. Jedes Bündel wird von einer eigenen Hülle, dem Perineurium, umgeben. Das Epineurium umschließt alle Nervenbündel als gemeinsame Hülle und füllt den Raum zwischen ihnen als lockeres Bindegewebe aus. Die größeren Nerven der Ratte, z. B. auch der N. isch., zeigen jedoch keinen faszikulären Aufbau; sie können als ein einziges Bündel aufgefaßt werden.

Schon bei schwacher Vergrößerung (Abb. 1) fällt an der inneren Fläche der bindegewebigen Hülle das dünne Perineurium auf. Mit einer stärkeren Vergrößerung (Abb. 2—5) erkennt man, daß das Perineurium ein komplexes, mehrschichtiges System ist, welches abwechselnd parallel angeordnete Zell- und Fibrillenschichten enthält. Nach außen grenzt das Perineurium an die eigentliche bindegewebige Hülle, die sich hauptsächlich aus längsorientierten kollagenen Fasern zusammensetzt. In der lockerer gebauten oberflächlichen Schicht dieser Hülle findet man Bindegewebszellen und Fettzellen.

1. Das Perineurium. Das Perineurium wird von parallelen Zellschichten gebildet, zwischen welche feine Fibrillenschichten und Basalmembranen eingeschaltet sind. Die Zahl der Zellschichten ist verschieden; sie ist bei dünneren Nerven geringer. Am N. isch. und seinen Ästen wurden etwa 6 Zellschichten gefunden. Nerven, die nur wenige Fasern enthalten, dürften nicht mehr als 1—2 Zellschichten besitzen.

a) Zellschichten. Die Zellschichten bestehen aus stark abgeplatteten, eng aneinanderliegenden, plattenepithelähnlichen Zellen. Eine solche Zellschicht umhüllt das Nervenbündel ringförmig und lückenlos. Das ganze Perineurium kann also vergleichsweise als ein System ineinandergeschobener Röhren aufgefaßt werden. Der durchschnittliche Durchmesser der beschriebenen Zellen dürfte nach lichtmikroskopischen Messungen (Röhlich 1955) bei etwa 90 μ liegen, während die Höhe der Zellen durchschnittlich nur 90 mμ, d. h. ein Tausendstel des Durchmessers beträgt. Diese Größe liegt bereits unter dem Auflösungsvermögen des Lichtmikroskops. An manchen Stellen sind die Zellen nur 25 mμ hoch, während ihre Höhe an anderen Stellen den Wert von 200—250 mμ erreicht; in diesem Falle können sie auch lichtmikroskopisch untersucht werden.

Die benachbarten Zellen derselben Schicht schieben sich mit ihren abgeflachten Rändern übereinander, wodurch vermutlich ihr Zusammenhalt verstärkt

wird. An Querschnitten sind die Zellmembranen von zwei sich überlappenden Zellrändern als parallele dunkle Linien zu erkennen. Ob die dazwischenliegende hellere Zone (8—10 mμ breit) eine interzellulare Kittsubstanz darstellt (Abb. 4), kann nicht entschieden werden.

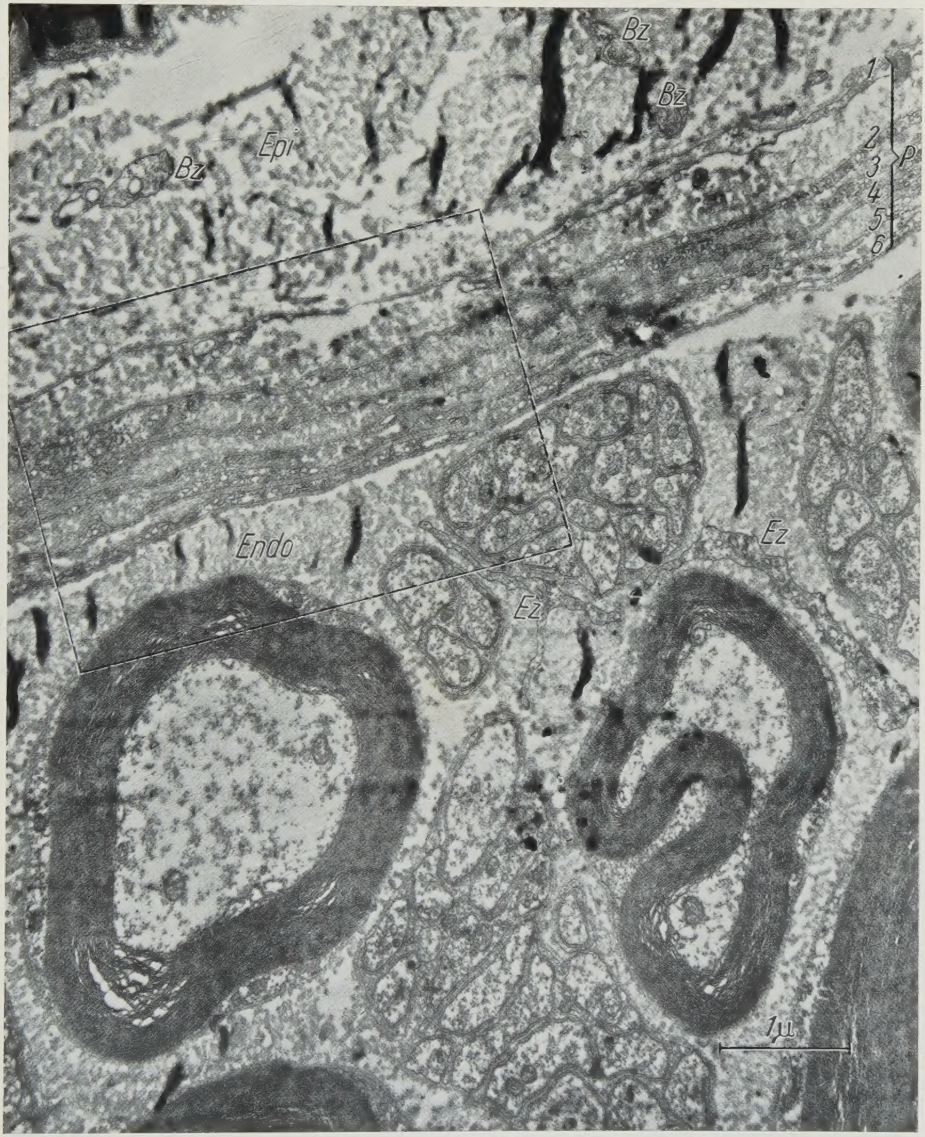


Abb. 1. Querschnitt des N. isch. Übersichtsaufnahme. Das Perineurium *P* besteht aus 6 stark abgeplatteten, lückenlosen Zellschichten (*1—6*), an beiden Seiten mit homogenen Basalmembranen bedeckt. Zwischen den perineuralen Zellschichten feine Faserschichten von unterschiedlicher Dicke. Die innere Schicht der Bindegewebshülle (Epineurium) legt sich mit ihren Fibrillenbündeln *Epi* und Bindegewebszellen *Bz* dem Perineurium von außen dicht an. Im sog. endoneuralen Raum mehrere quergeschnittene markhaltige und marklose Nervenfasern. Der Raum zwischen den Nervenfasern ist mit dem aus Bindegewebsfibrillen *Endo* und endoneuralen Bindegewebszellen *EZ* aufgebauten Endoneurium ausgefüllt

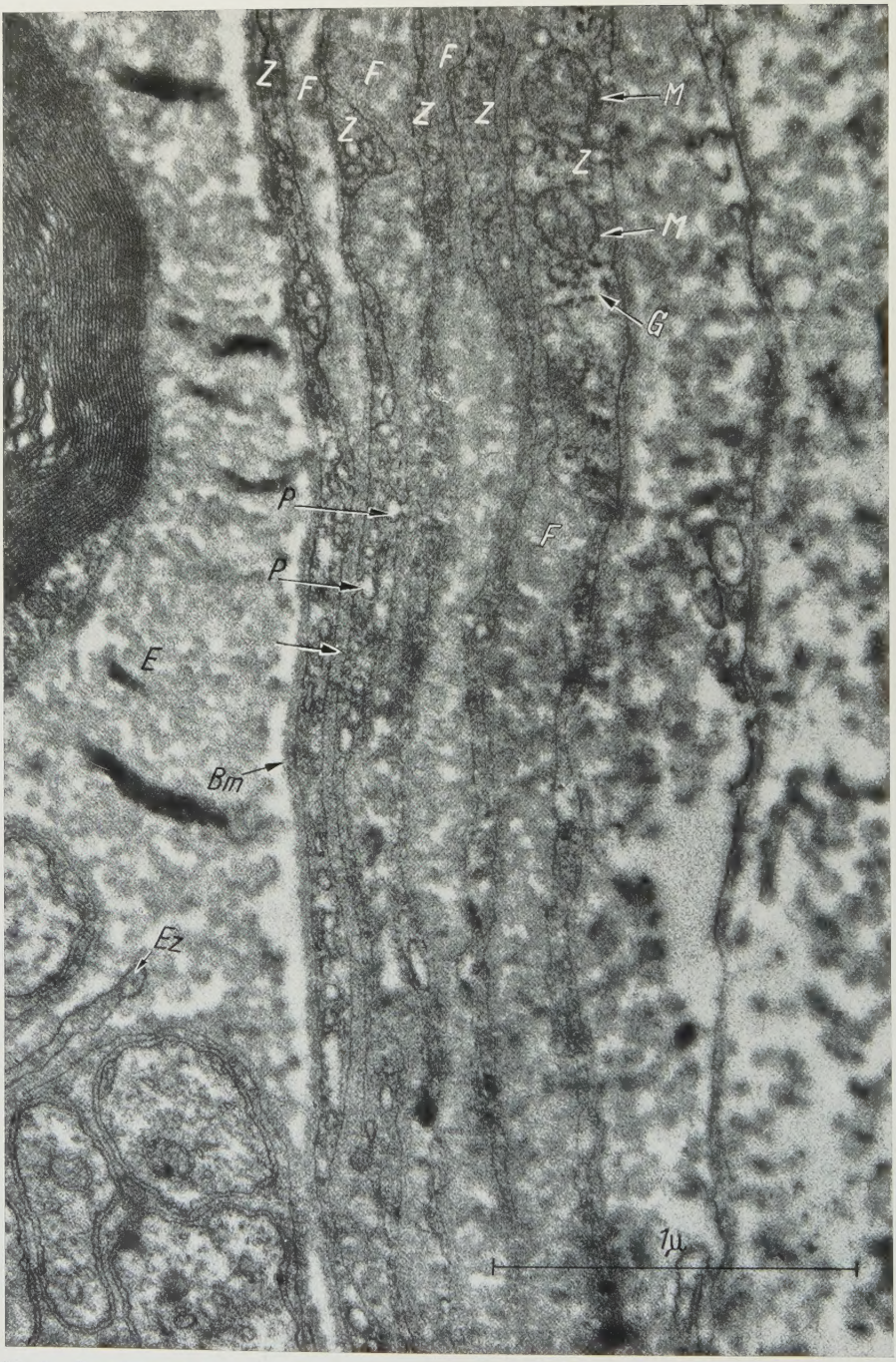


Abb. 2. Vergrößerung des in Abb. 1 bezeichneten Ausschnittes. Zwei Mitochondrien *M* in einer Zellschicht des Perineuriums. Epithelartige Zellschichten *Z*, Basalmembranen *Bm* und Fibrillenschichten *F* gut erkennbar. An der mit ↓ bezeichneten Stelle fehlt die Fibrillenschicht. An solchen Stellen sind die benachbarten perineuralen Zellschichten nur durch 2 Basalmembranen getrennt. Die Zellmembran der perineuralen Zelle zeigt oft Einstülpungen *P*, die wahrscheinlich auf eine Pinocytose hindeuten. *E* endoneurale Bindegewebsfibrillen; *EZ* endoneurale Zelle; *G* Palade-Granula

Beide Seiten der Zellschichten sind von einem homogenen Belag bedeckt (Abb. 2), der den Basalmembranen der Schwannschen, Fett- und glatten Muskelzellen ähnelt. Es dürfte sich auch in diesem Falle um eine Basalmembran handeln. Diese Membran besteht aus 2 Schichten, aus einer inneren, unmittelbar der Zellmembran anliegenden, helleren und einer äußeren, dichteren Zone. Die gesamte Dicke beider Schichten beträgt etwa 18 mμ. Die Dicke der Basalmembranen bestimmt die geringste Entfernung zwischen 2 Zellschichten (36 mμ) (Abb. 2, $\downarrow$), meistens sind aber noch Fibrillenschichten eingelagert, wodurch dieser Abstand vergrößert wird.

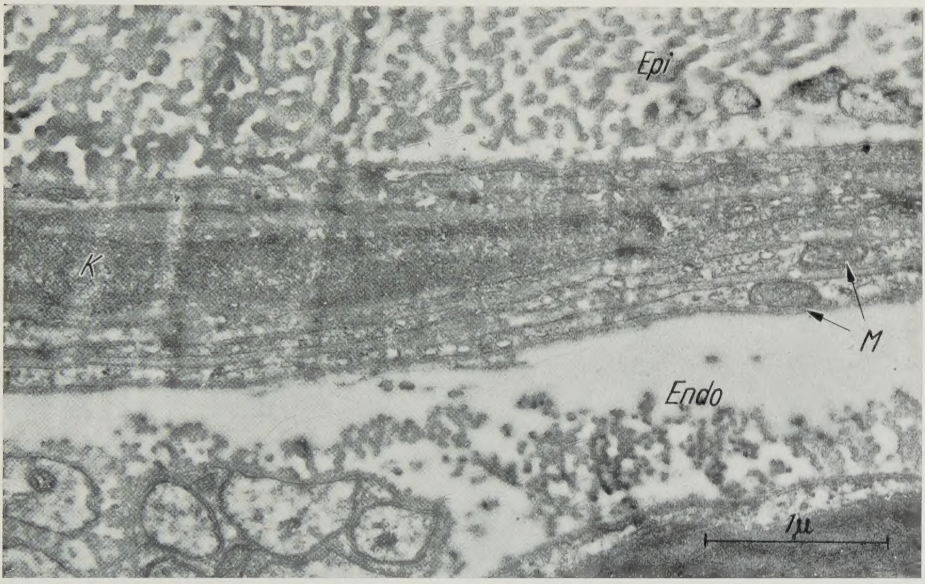


Abb. 3. Die dritte Zellschicht des Perineuriums enthält einen abgeplatteten Zellkern *K*; 2 Mitochondrien *M* in anderen Zellschichten; *Epi* epineurale Kollagenfibrillen; *Endo* endoneurale Fibrillen

Im Zytoplasma können 50—60 mμ große Bläschen mit einem helleren Inhalt und einer dem Plasmalemm ähnlichen Membran beobachtet werden. Sie sind oft in der Nähe der Zelloberfläche zu finden, wo manche von ihnen einen direkten Zusammenhang mit der Zellmembran aufweisen (Abb. 2, *P*). Es darf angenommen werden, daß sie durch Einsenkungen und Abschnürungen der Zellmembran entstanden sind (Pinozytose). Ähnliches beobachteten wir auch an den Schwannschen Zellen und den Fettzellen. Da die Dicke der Zellschichten nur um weniges größer ist als der Durchmesser der Vakuolen, ist es schwer zu entscheiden, ob diese Bläschen mit dem endoplasmatischen Retikulum („smooth surfaced endoplasmic reticulum") identisch sind oder an seiner Bildung teilnehmen.

Im Zytoplasma der Zellen findet man — wahrscheinlich wegen ihrer extremen Abplattung — nur wenige Zellorganellen. An manchen Stellen können charakteristische lamellär gebaute Mitochondrien beobachtet werden. Die 2 Typen des endoplasmatischen Retikulums sind oft zu sehen, in erster Linie die „smooth surfaced profiles". Die granulierten Profile („rough surfaced profiles") werden in geringerer Zahl in den äußeren Zellschichten gefunden. Die Zellen enthalten

manchmal aber auch isolierte Palade-Granula, entweder in Gruppen oder diffus im Zytoplasma verteilt. Die Granula konnten nur in den äußeren Zellschichten und auch hier in nur geringerer Anzahl erkannt werden. Gelegentlich sieht man Vakuolen von 100—200 mμ Durchmesser, welche stark elektronenstreuende, kugelige oder unregelmäßig geformte Körnchen enthalten. Vermutlich wurden diese Granula durch Phagozytose aufgenommen (Abb. 4, *V*). Zellkernen begegnet man nur an wenigen Stellen, wahrscheinlich wegen der starken Abplattung der Zellschichten (Abb. 3).

Abb. 4. Die perineuralen Zellschichten sind infolge des Fehlens von Fibrillenschichten an mehreren Stellen eng aneinandergepreßt. Eine der Zellschichten zeigt in eine Vakuole *V* eingeschlossen stark elektronenstreuendes Material. Bei × Überlappung zweier benachbarter Zellen; *M* Mitochondrium; *EZ* Fortsatz einer endoneuralen Zelle

b) Fibrillenschichten. Sind zwischen den Zellschichten Bindegewebsfibrillen eingelagert, so befinden sie sich stets zwischen den beiden Basalmembranen. Die Fibrillen verlaufen parallel zur Längsachse des Nerven, so daß man an Nervenquerschnitten auch die Querschnitte dieser Fibrillen erkennt. Sie sind bedeutend dünner als die kollagenen Fibrillen des Epineuriums, ihr Durchmesser ist etwa halb so groß wie der der Fasern im Epineurium; diese Fibrillen scheinen in eine homogene Grundsubstanz eingebettet zu sein. Es darf angenommen werden, daß sie mit den lichtmikroskopisch nachweisbaren Gitterfasern identisch sind.

2. Die bindegewebige Hülle. Außerhalb des Perineuriums findet man die eigentliche Bindegewebshülle des Nerven, die meistens aus 2 Schichten besteht. Die innere Schicht legt sich dem Perineurium an, umgibt jedes einzelne Faserbündel und ist aus einem dichteren Bindegewebe aufgebaut. Die äußere Schicht ist lockerer gebaut, reicher an Bindegewebs- und Fettzellen und enthält mehr Gefäße. Diese Schicht füllt die Räume zwischen den einzelnen Bündeln aus und bildet eine einheitliche Hülle um den ganzen Nerven. Die innere Schicht kann dem Perineurium zugerechnet und nach Clara und Özer (1959) und Lehmann (1959) als dessen Faserschicht aufgefaßt werden.

Man kann aber auch die innere und die äußere Schicht als eine Einheit auffassen und in ihrer Gesamtheit als Epineurium bezeichnen. Zugunsten dieser Auffassung spricht, daß die innere Schicht nach ihrem histologischen Bau viel eher zum faserigen Epineurium als zum zellulären Perineurium gehört. Die Bauelemente der Bindegewebshülle sind hauptsächlich kollagene Fasern (Abb.6 und 7), die entweder parallel zur Nervenlängsachse oder spiralig verlaufen. In der inneren Schicht sind die Faserbündel dicht aneinandergedrängt; mehr zur Peripherie hin ist ihr Bau lockerer und man findet hier öfter Faserbündel, die nicht parallel zur Nervenlängsachse orientiert sind.

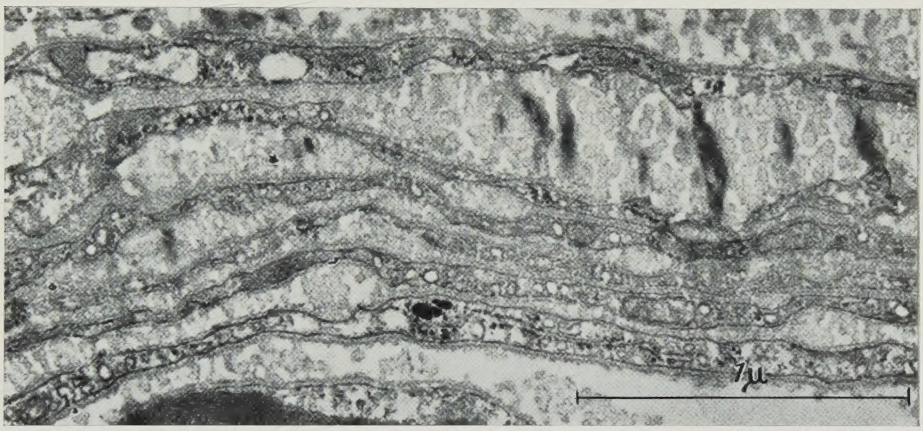


Abb. 5. Querschnitt des Perineuriums. Die einzelnen Zell-, Fibrillen- und Basalmembranschichten sind gut zu erkennen. Manche der Zellschichten zeigen Palade-Granula bzw. „rough surfaced vesicles"

Zwischen den Fasern können ovale oder bandförmige Gebilde (Abb. 6 und 7) beobachtet werden, vermutlich die Anschnitte von Fortsätzen der Bindegewebszellen. Diese Anschnitte unterscheiden sich von denen der perineuralen Zellen nicht nur durch Form und Lage und durch ihren Zytoplasmareichtum, sondern vor allem dadurch, daß sich an ihrer Oberfläche keine Basalmembran befindet. Manche von ihnen enthalten ein gut ausgebildetes endoplasmatisches Retikulum, viele Mitochondrien, verschieden große Vakuolen und daneben auch phagozytierte Partikel, die in runden Vakuolen eingeschlossen sind oder zerstreut im Zytoplasma liegen (Abb. 7, *H*).

In der äußersten Schicht der Bindegewebshülle kommen vereinzelt auch mit schwarzgefärbten Fettsubstanzen prall gefüllte Fettzellen vor. Im randständigen Zytoplasma können ähnliche Strukturen wie in den Zellen des Perineuriums beobachtet werden, die auf eine Pinozytose schließen lassen.

3. Endoneurium. Der vom Perineurium umgebene Endoneuralraum ist von dem Endoneurium erfüllt; es besteht aus längsverlaufenden Fibrillen und aus Zellen (Abb. 1—4).

Die Fibrillen ähneln denen der Faserschicht des Perineuriums, ihr Durchmesser ist bedeutend kleiner als der der Fibrillen der äußeren Hülle. Man findet zwischen den Nervenfasern eine verhältnismäßig große Anzahl von Bindegewebsfasern oder Faserbündeln, die jedoch keine geschlossene kompakte Hülle um die Nervenfaser bilden. Dieser Befund steht im Gegensatz zu denen von Key und

Retzius (1876) („Fibrillenscheide") und von Plenk (1934) und Laidlaw (1930) („Plenk- und Laidlawsche Scheide").

Die Zellen des Endoneuriums besitzen einen verhältnismäßig geringen Durchmesser, woraus gefolgert werden kann, daß es sich um langgestreckte, spindel-

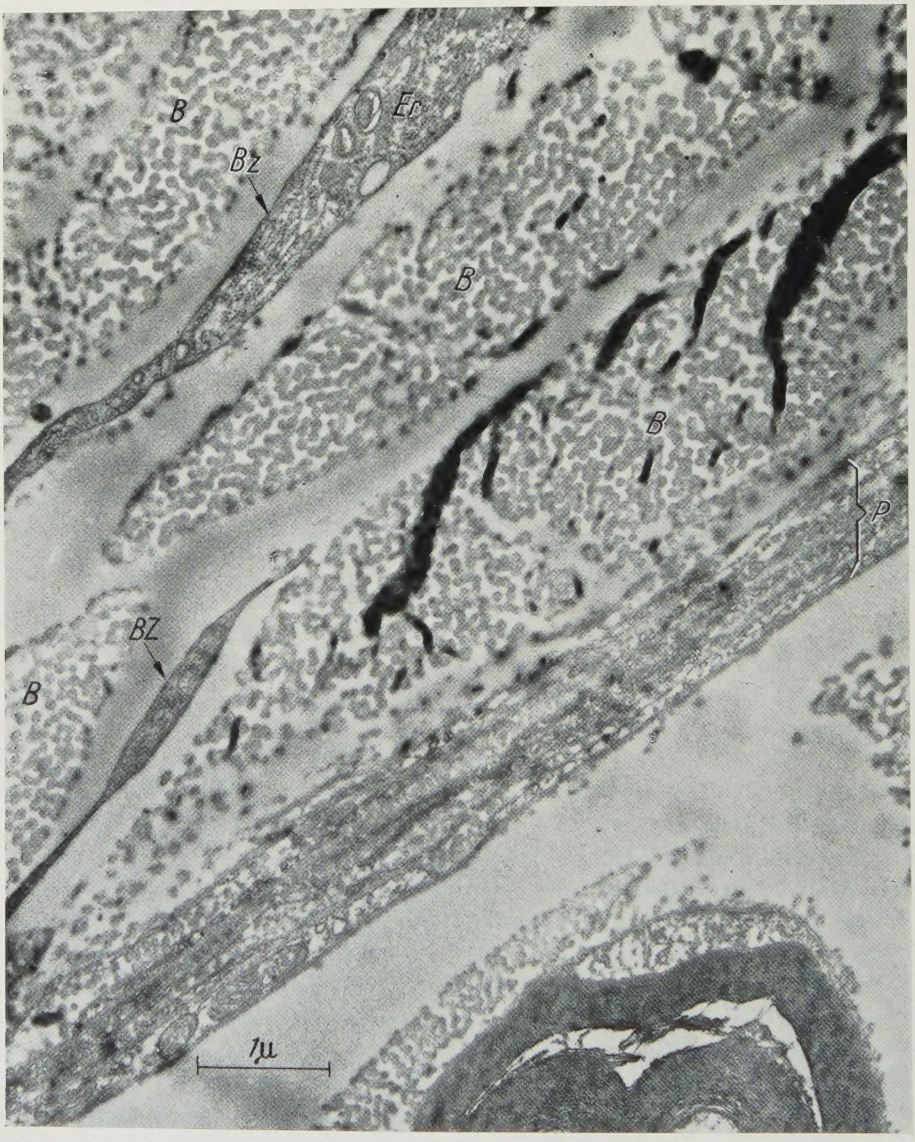


Abb. 6. Perineurium *P* und Epineurium im Querschnitt. Das Epineurium besteht aus längsverlaufenden Fibrillenbündeln *B* und aus Bindegewebszellen *BZ*. Beachte die Fortsätze von Bindegewebszellen; einer enthält ein gut ausgebildetes Ergastoplasma *Er*. An der Oberfläche der epineuralen Bindegewebszellen keine Basalmembran

förmige Fibrozyten handeln dürfte. An ihrer Oberfläche liegt wie an den Zellen der äußeren Bindegewebshülle keine Basalmembran; ihr Zytoplasma ist aber strukturreich (endoplasmatisches Retikulum, Vakuolen usw.).

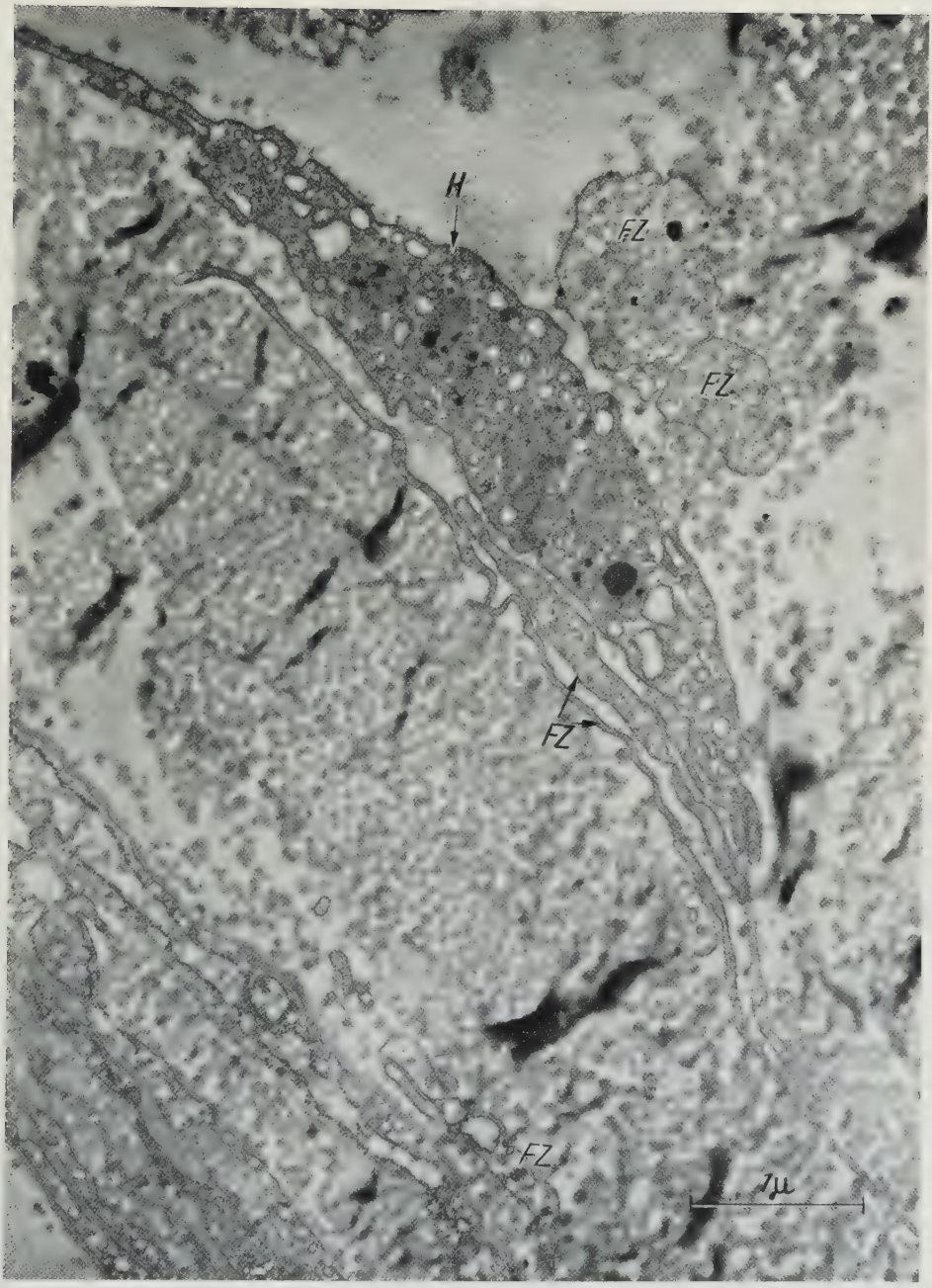


Abb. 7. Peri- und Epineurium. Mehrere Bindegewebszellen des Epineuriums sind sichtbar; eine von ihnen zeigt die Charaktere eines Histiozyten *H*. Im Zytoplasma mehrere leere sowie mit körnigem Material gefüllte Vakuolen. *FZ*: aller Wahrscheinlichkeit nach Fortsätze von Fibrozyten

Es gelang uns nicht, einen engen strukturellen Zusammenhang oder einen Übergang zwischen Peri- und Endoneurium zu beobachten. Viel mehr befindet sich zwischen ihnen ein *Spaltraum*. Selbst wenn dieser ein Kunstprodukt sein

sollte, kann man nicht auf eine strukturelle Verbindung schließen, da keine verbindenden Strukturen zwischen beiden zu erkennen sind. Wir möchten sogar annehmen, daß dieser Raum auch im lebenden Zustand vorhanden ist, da sich in den Nerven injizierte Flüssigkeiten meistens hier ansammeln.

Besprechung

Es erscheint uns zweckmäßig, zuerst die Nomenklatur der Nervenscheiden festzulegen. Auf diesem Gebiet herrscht eine beträchtliche Unsicherheit. Die Tatsache, daß verschiedene Elemente der Nervenscheiden mit ein- und demselben Namen benannt werden, gab zu Mißverständnissen und Diskussionen Anlaß. Wir hoffen, mit dieser Arbeit, in der wir die feinere Struktur der Scheiden beschreiben, einen Beitrag zur Klärung dieser Fragen leisten zu können. Wir möchten dabei hervorheben, daß wir unsere Untersuchungen an den Nerven der weißen Ratte vornahmen. Es bleibt also offen, ob und wieweit die erhaltenen Befunde auf den Menschen übertragen werden können.

Wie bereits beschrieben, können in den Nervenscheiden 2 Komponenten gut unterschieden werden. Die eine ist eine innere, von Zellamellen aufgebaute Scheide, die andere eine rein bindegewebige Hülle, in welcher Fasern vorherrschen. Beide Komponenten können mit verschiedenen Methoden (z. B. Imprägnation, Histochemie, Polarisationsmikroskopie) dargestellt und unterschieden werden. Key und Retzius (1876) nannten die innere, aus Zellen gebildete Scheide Perineurium, die äußere Hülle dagegen Epineurium. Diese Namen werden auch heute noch, obwohl manchmal in verschiedenem Sinne, gebraucht.

Im allgemeinen verstehen wir also, auch hinsichtlich der faszikulär gebauten Nerven, unter *Perineurium* jene Komponente der Nervenscheide, die jedes Nervenfaserbündel als geschlossene Hülle umgibt und aus Zellschichten mit Basalmembranen besteht. Dagegen ist das *Epineurium* aus Bündeln von kollagegen Fibrillen mit relativ wenigen Zellen aufgebaut. Die innere Schicht des Epineuriums ist dicht, legt sich eng an das Perineurium an und umgibt jedes einzelne Nervenfaserbündel. Die äußere Schicht ist lockerer gebaut, verbindet die einzelnen Nervenfaserbündel, wodurch die morphologische Einheit „Nerv" zustande kommt. Der innere, dichter gebaute Anteil des Epineuriums kann auch dem Perineurium zugerechnet werden, wie es z. B. auch Clara und Özer (1959) und Lehmann (1959) tun.

Unsere letzten Arbeiten machen eine Korrektur der von uns früher gebrauchten Nomenklatur notwendig. Das von uns als *Perilemm* bezeichnete Element (Lehmann: Neurothel, Clara u. Özer: „Stratum cellulare perineurii") entspricht dem Perineurium und das von uns Perineurium genannte Strukturelement ist mit der inneren, dichteren Schicht des Epineuriums identisch (Lehmann: Perineurium, Clara: Stratum lamellare perineurii). Das Perineurium des N. isch. der Ratte ist äußerst dünn, (1—1,5 μ) und bei gewöhnlicher Färbung kaum wahrzunehmen. Dagegen zeigt die innere Schicht des Epineriums einen ausgesprochen lamellären Charakter. In der dünnen perineuralen Schicht („Perilemm") haben wir mit dem Lichtmikroskop — nach Maßgabe der Anordnung der Zellkerne — nur 2, höchstens 3 Zellschichten erkannt. Unsere elektronenmikroskopischen Untersuchungen zeigen jedoch, daß das Perineurium aus 5—6 Zellschichten aufgebaut ist, deren jede etwa 90 mμ dick ist, d. h. sie liegt unter der Grenze des

Auflösungsvermögen, des Lichtmikroskopes. Die Zellgrenzenimprägnierung mit Silbernitrat schien unsere frühere Annahme zu bekräftigen, da wir wie auch andere Autoren (Key und Retzius 1876, Ranvier 1878, Lehmann 1953, 1957, Krnjević 1954, Clara und Özer 1959) mit dieser Methode immer nur die Grenzen von 2, selten 3 Zellschichten erkennen konnten. Es ist möglich, daß die Silberlösung gerade wegen der diffusionshemmenden Wirkung der Zellschichten nur in die äußeren Zellschichten eindringen konnte und demzufolge nur von diesen ein Bild gab.

Besonders bewunderungswert sind die genauen Beobachtungen von Key und Retzius, denen es in der zweiten Hälfte des vorigen Jahrhunderts mit verhältnismäßig einfachen Methoden gelang, eine Beschreibung der Nervenscheiden zu geben, die auch heute noch Gültigkeit hat. Unsere Befunde weichen in nur 3 Punkten von ihr ab: 1. Nach Key und Retzius wird das Perineurium von Lamellen gebildet, die an beiden Seiten von Zellen begrenzt werden. Danach würde das Perineurium doppelt so viele Zellschichten wie Faserschichten besitzen. Nach unseren Befunden kommen Zell- und Faserschichten abwechselnd vor, d.h. das Perineurium wird von ebensovielen Zell- wie Faserschichten gebildet. 2. Nach Key und Retzius soll es einen allmählichen Übergang zwischen Peri- und Epineurium geben, wobei die innere Schicht des Epineuriums ebenso gebaut ist wie das Perineurium; nur der Abstand der einzelnen Lamellen des Epineuriums soll etwas größer sein. Unsere Bilder zeigten aber einen bedeutenden strukturellen Unterschied zwischen Epi- und Perineurium. 3. Im Endoneurium konnten wir keine regelmäßig aufgebaute Fibrillenschicht beobachten, welche die Nervenfasern umhüllen sollte. Wir fanden vielmehr, daß die endoneuralen Fibrillen regellos zwischen den Nervenfasern verlaufen.

Unsere elektronenmikroskopischen Befunde stimmen gut mit unseren früheren Feststellungen über das Perineurium („Perilemm") überein. Es gelang z. B. uns und anderen Autoren (Benoit, Stahl, Cotte und Seite 1953) nachzuweisen, daß das Perineurium reich an Mukoproteiden ist, die wahrscheinlich in der Basalmembran eingelagert sind (Röhlich 1956a). Die elektronenmikroskopischen Untersuchungen ergaben, daß das Perineurium tatsächlich *Basalmembranen* besitzt, und zwar in einer größeren Anzahl, als wir bisher angenommen haben. Es ist also nicht verwunderlich, daß diese Basalmembranen, ähnlich wie die entsprechenden Hüllen von Fett-, Muskel- und Schwannschen Zellen eine starke PJS-Reaktion geben. Es wurde auch festgestellt, daß das Perineurium eine komplexe Doppelbrechung aufweist (Röhlich 1956b). Wir deuteten diese Tatsache folgendermaßen: im Perineurium sind, parallel zur Oberfläche orientiert, entweder Lamellen oder submikroskopische Fasern oder eine Kombination beider Elemente vorhanden. Da die Doppelbrechung des Perineuriums prinzipiell mit der der Zellmembranen übereinstimmt, darf angenommen werden, daß sie tatsächlich durch die dicht nebeneinanderliegenden Zellmembranen hervorgerufen wird. In diesen Zellmembranen wird die Doppelbrechung von den zur Zelloberfläche parallel verlaufenden Eiweißlamellen und den dazu senkrecht angeordneten Lipoidmolekülen verursacht. In welchem Maße die Basalmembranen zur Doppelbrechung beitragen, konnten wir bisher nicht feststellen. Die positive Doppelbrechung war stärker in den Längsschnitten als in den Querschnitten. Deshalb vermuteten wir, daß die die Doppelbrechung verursachenden Fibrillen in der

Längsrichtung des Nerven angeordnet sind. In unseren elektronenmikroskopischen Untersuchungen konnten wir nunmehr zeigen, daß die feinen Fibrillen zwischen den Zellamellen tatsächlich in der Längsrichtung orientiert sind. Wahrscheinlich sind diese Fibrillen mit den Gitterfasern identisch, die wir früher durch Silberimprägnation nachgewiesen haben (Röhlich 1956a).

Die bisherigen zahlreichen elektronenmikroskopischen Untersuchungen über die peripheren Nerven beschränkten sich auf die submikroskopische Struktur der Nervenfasern selbst. Bei Robertson (1955, 1956) jedoch findet man Bilder und Beschreibungen der Scheiden von kleinsten Nerven. Seine Abbildungen zeigen, daß diese Scheiden aus 1—2 Zellamellen bestehen, welche dieselben morphologischen Eigenschaften wie die von uns beschriebenen perineuralen Zellamellen aufweisen. Es ist also sehr wahrscheinlich, daß die von Robertson als „endoneural sheath" bezeichnete Scheide dem Perineurium größerer Nerven entspricht bzw. seine auf 1—2 Lamellen reduzierte Fortsetzung ist. Dafür sprechen auch Beobachtungen, die wir an den subgemmalen Nerven der Papillae foliatae des Kaninchens gemacht haben. Die stark reduzierte perineurale Scheide nannte man früher auch Henlesche Scheide (Retzius 1878).

Auch das Problem, wie weit sich das Perineurium in die Peripherie erstreckt, ist interessant. Es stellt sich die Frage, ob das Perineurium die Nerven bzw. die selbständig verlaufenden einzelnen Nervenfasern bis zu den Nervenendigungen umkleidet. Wahrscheinlich umhüllt das Perineurium auch die peripherstен Nervenäste, möglicherweise auch die selbständigen Fasern (Robertson 1956). Man kann sogar annehmen, daß die perineuralen Schichten an der Bildung der sog. bindegewebigen Hülle einzelner Endapparate beteiligt sind. Auffällig ist, daß besonders die äußerste Hülle der Muskelspindel ähnlich wie das Perineurium gebaut ist (Robertson 1956). Vielleicht sind auch die äußeren Lamellen der Vater-Pacinischen Körperchen umgewandelte Schichten des Perineuriums (Pease und Quilliam 1957). Ebenso wichtig ist die Frage, wie weit das Perineurium in der Richtung Zentralnervensystem reicht. Da die spinalen Ganglien noch eine perineurale Scheide besitzen, dürfte das kritische Gebiet im Bereich der Spinalwurzeln liegen. Ob das Perineurium mit den im wesentlichen ähnlich gebauten weichen Hirnhäuten in Zusammenhang steht, ist noch ungeklärt. — Dem Perineurium ähnliche Zellamellen hat Gasser (1956) elektronenmikroskopisch im Gebiet der Fila olfactoria, Pease (1958) in den Scheiden der spinalen Nerven und Wetzstein (1958) in den vegetativen Nervenästen der Nebenniere beobachtet.

Die Feinstruktur des Perineuriums gibt eine gute Erklärung für die von uns früher beschriebene Diffusionsbarriere. Die in den Nerv diffundierenden Ionen müssen mehrere Zellschichten und doppelt soviele Zellmembranen durchdringen. Auf diese Weise vervielfacht sich im Perineurium die diffusionshemmende Wirkung der selektiv-permeabeln Zellmembran. Nach Chambers und Zweifach (1947) sowie Mende und Chambers (1958 diffundieren Stoffe, die durch Epithelmembranen hindurchgelangen, nicht durch die Zellmembranen, sondern durch eine angeblich vorhandene, leichter überwindbare, interzellulare Kittsubstanz. Im Perineurium verhält sich die gesamte Oberfläche der Kittsubstanz zur Gesamtfläche der stark abgeplatteten Zellen wie 1:35000, d. h. die Flächen, durch welche die Ionen penetrieren, sind äußerst klein. Die Penetration wird auch

dadurch erschwert, daß die Kittleisten der verschiedenen Schichten nur in den seltensten Fällen genau übereinander angeordnet sind und die Ionen deshalb zwischen 2 Zellschichten noch eine verhältnismäßig bedeutende Entfernung durchwandern müssen, bis sie die Kittleiste der nächsten Schicht erreichen. Diese Tatsache erklärt einerseits die Verminderung der Konzentration der diffundierenden Substanzen, andererseits die diffusionshemmende Wirkung des Perineuriums. Diese Auffassung stimmt mit unserem früheren Befund, daß die Barrierewirkung bei Vorhandensein weniger perineuraler Lamellen geringer ist, gut überein. Mit dieser Annahme kann auch jener interessante Befund erklärt werden, daß die Hyaluronidase die Permeabilität nur in geringerem Maße fördert, als Stoffe, die auf die Zellmembran wirken. Die Barrierewirkung ist hauptsächlich an die Zellmembranen der perineuralen Zellschichten gebunden. Ob auch die Basalmembranen eine Barrierewirkung ausüben, ist ungeklärt.

Zusammenfassung

Das Perineurium des N. ischiadicus der Ratte ist aus parallelen, aufeinanderliegenden platten Zellschichten aufgebaut, zwischen denen feine Fibrillenschichten eingeschaltet sind. Jede Zellschicht besteht – ähnlich wie ein Plattenepithel – aus stark abgeflachten Zellen (durchschnittliche Dicke etwa 90 mμ), deren beiden freien Oberflächen eine homogene, 18 mμ dicke Basalmembran anliegt. Im Zytoplasma dieser Zellen findet man neben dem Zellkern, den Mitochondrien, dem endoplasmatischen Reticulum und Einschlüssen auch Zeichen einer lebhaften Pinozytose. In den Fibrillenschichten verlaufen, in einer homogenen Grundsubstanz eingebettet, feine Fibrillen in der Längsrichtung des Nerven. Der Zusammenhang zwischen der Feinstruktur des Perineuriums und seiner Rolle als Diffusionsbarriere wird besprochen.

Das Epineurium, besonders seine innere dichte Schicht, ist aus längsverlaufenden, kollagenen Fibrillenbündeln zusammengesetzt. Zwischen diesen Bündeln findet man rundliche oder bandförmige Anschnitte von Bindegewebszellen, an deren Oberfläche keine Basalmembran erkannt werden kann.

Literatur

Benoit, H. P., A. Stahl, G. Cotte et R. Seite: Recherches sur les enveloppes nerveuses. Étude du périnèvre par la réaction de MacManus-Hotchkiss. C. R. Soc. Biol. (Paris) **147**, 1142—1145 (1953).

Chambers, R., and B. W. Zweifach: Intercellular cement and capillary permeability. Physiol. Rev. **27**, 436—463 (1947).

Clara, M., u. N. Özer: Untersuchungen über die sogenannte Nervenscheide. Acta neuroveg. (Wien) **20**, 1—18 (1959).

Gasser, S. H.: Olfactory nerve fibers. J. gen. Physiol. **39**, 473—496 (1956).

Key, A., u. G. Retzius: Studien in der Anatomie des Nervensystems und des Bindegewebes, Bd. II, S. 100—112. Stockholm: Norstedt u. Söner 1876.

Krnjević, K.: The connective tissue of the frog sciatic nerve. Quart. J. exp. Physiol. **39**, 55—71 (1954).

Laidlaw, G. F.: Silver staining of the endoneural fibers of the cerebrospinal nerves. Amer. J. Path. **6**, 435—443 (1930).

Lehmann, H. J.: The epineurium as a diffusion barrier. Nature (Lond.) **172**, 1045 (1953).

— Über Struktur und Funktion der perineuralen Diffusionsbarriere. Z. Zellforsch. **46**, 223—241 (1957).

— Die Nervenfaser. Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen, Bd. IV/4. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1959.

Mende, Th. J., and E. L. Chambers: Studies on solute transfer in the vascular endothelium. J. biophys. biochem. Cytol. **4**, 319—322 (1958).

Pease, D. C.: Persönliche Mitteilung 1958.

—, and T. A. Quilliam: Electron microscopy of the Pacinian corpuscle. J. biophys. biochem. Cytol. **3**, 331—342 (1957).

Plenk, H.: Die Schwannsche Scheide der markhaltigen Nervenfasern. Z. mikr.-anat. Forsch. **36**, 191—214 (1934).

Ranvier, M. L.: Leçons sur l'histologie du système nerveux, tom. I, p. 179—238. Paris: Savy 1878.

Retzius, G.: Was ist die Henlesche Scheide der Nervenfasern? Anat. Anz. **15**, 140 (1898).

Robertson, J. D.: The ultrastructure of adult vertebrate peripheral myelinated nerve fibers in relation to myelogenesis. J. biophys. biochem. Cytol. **1**, 271—278 (1955).

— The ultrastructure of a reptilian myoneural junction. J. biophys. biochem. Cytol. **2**, 381—393 (1956).

— Preliminary observations on the ultrastructure of a frog muscle spindle. Proc. Conf. on Electron Microscopy, p. 197—200, Stockholm 1956.

Röhlich, P.: Zur Histochemie des Perilemms. Acta morph. hung. **7**, 131—139 (1956a).

— Polarisationsoptische Untersuchungen an der Diffusionsbarriere der peripheren Nerven. Z. mikr.-anat. Forsch. **62**, 114—124 (1956b).

—, and M. Weiss: Studies on the histology and permeability of peripheral nervous barrier. Acta morph. hung. **5**, 335—347 (1955).

Rosenberg, H., and J. T. Gunner: Some structural and functional properties of the epineurium of the sciatic nerve of frogs. Arch. int. Pharmacodyn. **111**, 57 (1957).

Weiss, M., and P. Röhlich: Significance of the interstice of peripheral nerve. Acta morph. hung. **4**, 309—318 (1954).

Wetzstein, R.: Persönliche Mitteilung 1958.

Dr. P. Röhlich, Histologisch-Embryologisches Institut der Medizinischen Universität, Budapest, IX. Tüzoltó u. 58

Frau Dr. A. Knoop, Anatomisches Institut der Universität Kiel, Neue Universität, Eingang F I

Zeitschrift für Zellforschung 53, 313—322 (1961)

Laboratory of Radiation Biology, Academy of Agricultural Sciences, Prague, Czechoslovakia

CELL GROWTH ON HYDROPHOBIC SUBSTRATES

By

J. Rerabek

With 8 Figures in the Text

(Received September 8, 1960)

An influence of physical properties of the substratum on cell and tissue growth was supposed long ago. In morphogenesis, such interrelation was considered as one of the factors involved in the intermingling of the connective tissue and the epithelium, resulting in the structure of organs. Among the well known contributions presented by tissue and cell cultivation, the common hanging drop technique demonstrated the ability of the network of the plasma clot in supporting the proliferation of fibroblasts to the prejudice of other cell types. Very important facts have been discovered by explantation on plane surfaces: appropriate tissue fragments cultured on plane coagulated plasma may show a histotypic growth, cultivation on whole glass allows such a growth in dependence upon the composition of the nutrient medium, cellophane is preferred by primocultures when compared with glass (Evans and Earle 1947), the collagen gel (Ehrmann and Gey 1956) yields cultures of epithelium in which secretory activity may go on (Hillis and Bang 1959), and even a hydrophobic substratum like polyvinylformal (formvar) can yield not only good proliferating but also histiotypic growing cultures (Wirth and Barski 1947).

The process of the growth of plane tissue cultures includes three principal factors: the cell attachment to the substratum, the cell division and the cell migration. Without a prior attachment no cell proliferation occurs. The increase in size of a culture may happen by cell migration without cell division but not vice versa. Since the mentioned formvar substratum does not disturbs the histiotypic growth of epithelium nor of the connective tissue cells, there could be assumed that the hydrophoby is no fundamental obstacle for the migratory activity which is particularly pronounced in fibroblasts. This is contradictory to the former opinion the movement of fibroblasts being rather supported by surfaces of opposite physical properties, i. e. rough and hydrophilic.

The question concerning the relations between hydrophoby and the growth of the tissue cultures led to certain experiments dealing with an extreme water-repellent surface such as that given by silicone (Rochow 1946) which are the subject of the present communication.

Methods

Embryonic tissues (chicken heart, intestine, liver and brain) were explanted on the principle of the technique of Fell (Davies 1959) and Martin and Tomlin (1950) on cover glasses in a capillary layer of serum exsudate surrounded by a wall of coagulated plasma (for details see Rerabek and Rerabek 1960). The surface of the cover glasses was made water-repellent by dipping it in a liquid silicone similar to the Dri-Film 9977 (Rochow, Tullis) consisting of 5 g of a mixture of two methyl chlorosilanes [$(CH_3)_2SiCl_2 + CH_3SiCl_3$, volume ratio 2:1] in 100 ml benzene. After evaporation of the solvent the glasses were rinsed several times with tridestilled water and dried. The silicone film can be further hardened by heating for 1 hour

at 100° C. Only freshly coated glasses having an intact surface served for cultivations and no glass was used more than once. For comparable cultures, uncoated cover glasses were used

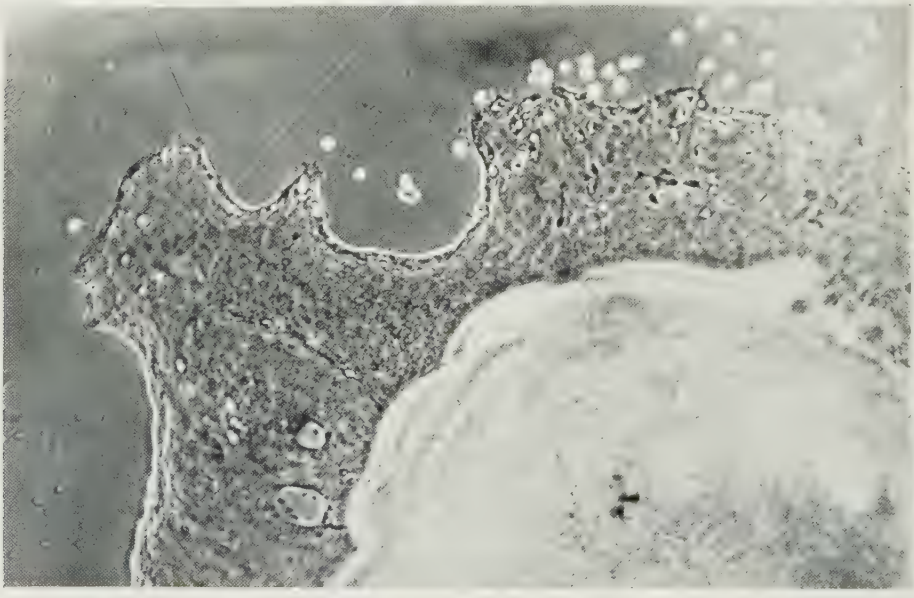


Fig. 1. Histiotypic growth of a chick intestine explant. Phase contrast, 85 ×

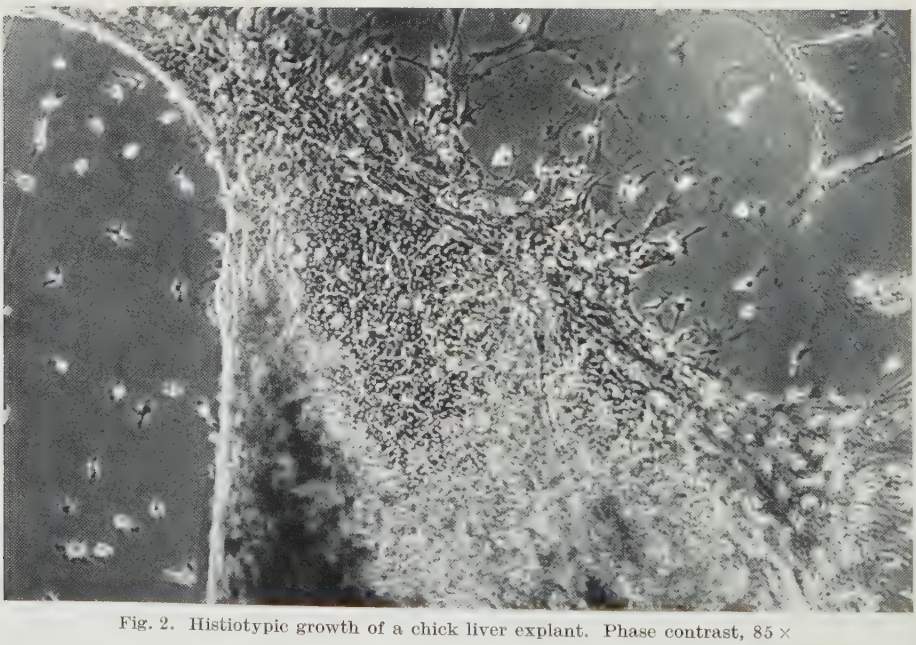


Fig. 2. Histiotypic growth of a chick liver explant. Phase contrast, 85 ×

(Na^{+}-K^{+}-glass of spec. gravity 2,40, extraction with boiling N NaOH + N Na_2CO_3 for 3 hours results in a weight loss of 1,75 mg per 1 cm^2); the glasses were cleaned according to Simms a. Sanders. The cell proliferation on the whole glass surface which has been carefully checked beforehand was in all cases luxurious (Fig. 5b). The growth was measured by planimetry

of the areas and by estimating the percentage of dividing cells in stained preparations. For autoradiography, the cultivations were performed with 50 mμC of P^{32} per 1 ml of the liquid medium; the wett-process-autoradiography according to *Ceccaldi* et al. (cf. Rerabek and Rerabek 1960) was used.

Results

All the cultures of intestine (Fig. 1) and liver (Fig. 2) showed relatively good histiotypic growth on silicone. The former yielded extensive membranes composed of monolayers of epithelial cells (Fig. 3), the latter islands of typical polygonal parenchyma cells (Fig. 4). The cultures on a glass surface were indistinguishable from those grown on silicone. The brain failed to proliferate on both substrates.

Fibroblasts grew on the hydrophobic silicone surface in their typical manner but the colonies were less rich in cells (Fig. 5a) than those on the glass surface (Fig. 5b). On silicone, the cells did not enter into tight mutual contacts (Fig. 6a) as was the case on the whole glass substratum (Fig. 6b). The growth areas on silicone (Table 1) were smaller but only the findings after 48 hours are of significance. On the other hand, a smaller percentage of mitotically dividing cells has been found and the total number of prophases was in all observations relatively low when compared with that in cultures on glass (Table 2). This may be assumed as a result of the prolonged mitotic cycle.

Table 1. *Areas of outgrowth (in mm²) of cultures of chicken fibroblasts on siliconed and uncoated glass*

	Silicone			Glass		Difference on silicone %
	Growth areas *	s_M **	P***	Growth areas *	s_M **	
24 hours	24,8	2,4	0,2	29,8	3,2	−17
48 hours	104,4	2,6	0,01	137,4	4,8	−24

* Mean of 130 experiments — ** Standard error.
*** Probability of error.

Table 2. *Frequency and phase distribution of mitoses*

		Percentage of dividing cells *	Difference on silicone %	Phase distribution					
				P	PM	M	A	T	R
Silicone	18 hours	2,0 ± 0,11	−35	0,4	0,3	0,4	0,4	0,2	0,3
	40 hours	3.6 ± 0,20	−40	1,4	0,4	0,8	0,5	0,2	0,3
Glass	18 hours	3,1 ± 0,16	—	1,1	0,5	0,4	0,6	0,1	0,4
	40 hours	6,0 ± 0,21	—	3,2	0,6	1,0	0,6	0,2	0,4

* ± standard error.
Phase distribution: P = Prophase — PM = Pro-Metaphase — M = Metaphase — A = Anaphase — T = Telophase — R = Reconstruction.

When serum was omitted from the nutrient, the explants did not adhere on silicone nor on glass and no areas of histiotypic growth developed. Fibroblasts stopped their initial proliferation first on silicone, than on glass and no cultures could be obtained in absence of serum by the technique used here.

Since the difference in the areas of outgrowth between silicone and glass was smaller than in the mitotic frequencies, the extent of the outgrowth areas on silicone must probably be explained by a good migratory activity of fibroblasts on

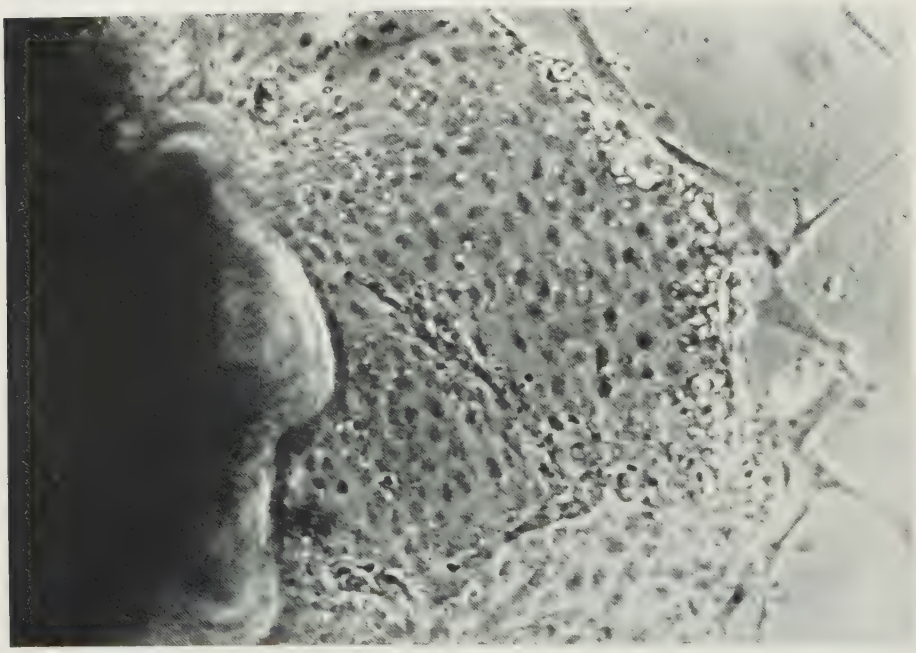


Fig. 3. Sheet of epithelial cells from an intestine explant. Phase contrast, 170 ×

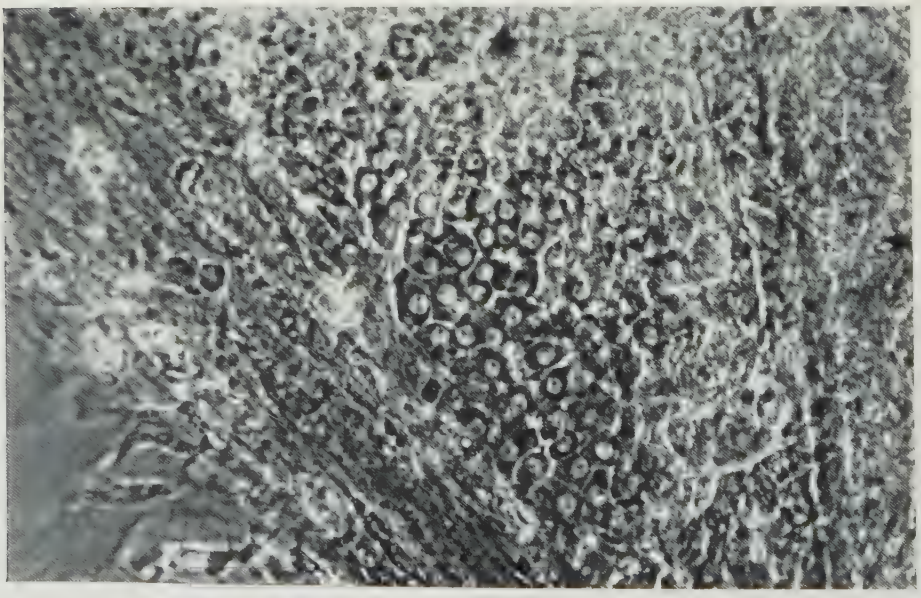


Fig. 4. Liver parenchyma sheet. Phase contrast, 340 ×

the silicone surface. This seemed to be confirmed by microscopic observations of living cultures (see also Fig. 7) although direct measurements of the cell movement were not made.

In stained preparations, the migrating fibroblasts showed an accumulation of chondriome-like particles in the posterior pseudopode (Fig. 7a, b). This pheno-

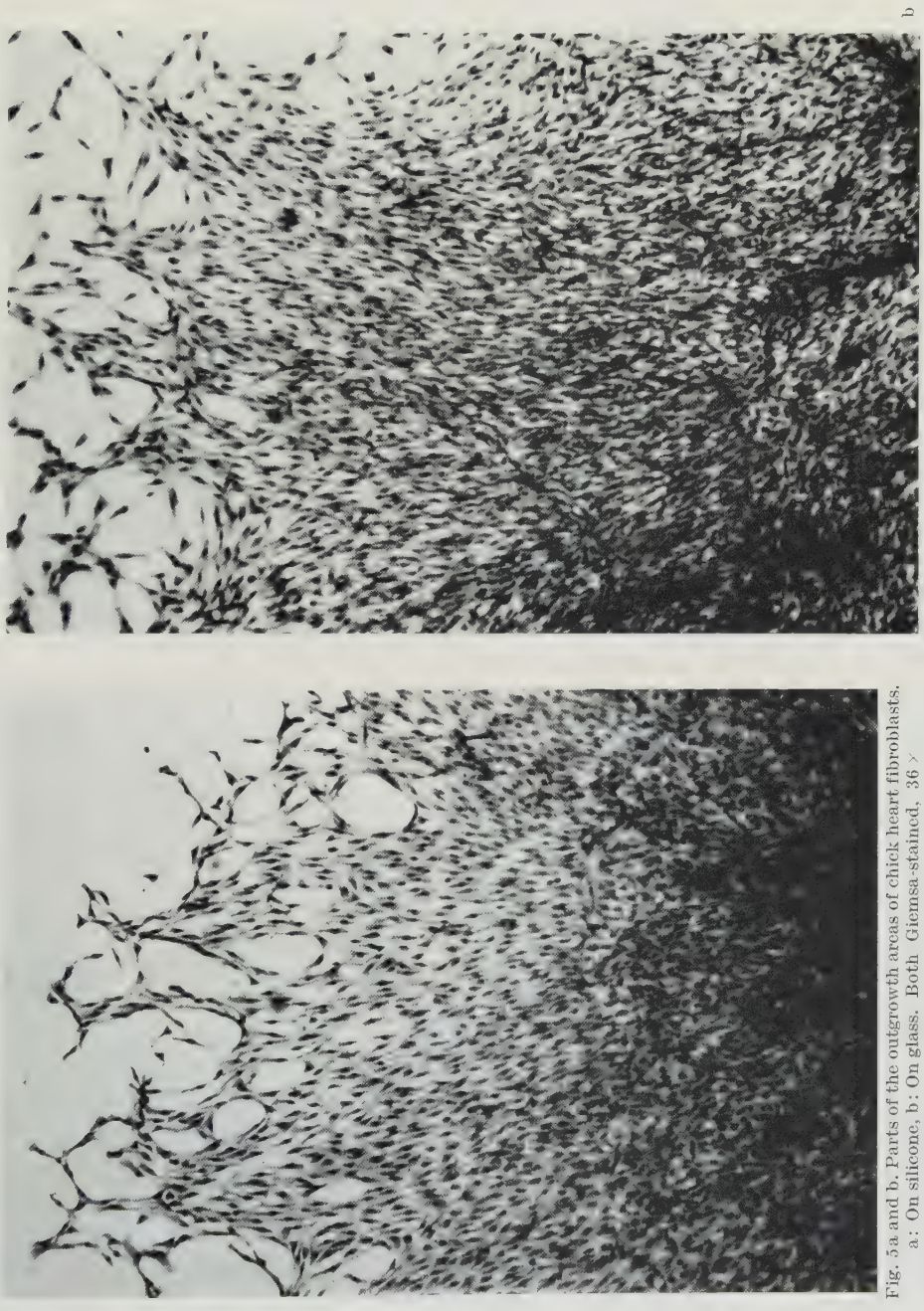


Fig. 5a and b. Parts of the outgrowth areas of chick heart fibroblasts. a: On silicone, b: On glass. Both Giemsa-stained, 36 ×

menon could be taken as evidence for an accumulation of structures in which processes furnishing the supply of energy for the cell motility are localized. The

autoradiographs, however, showed a homogeneous distribution of all radiophosphorus (Fig. 8) so that phosphate compounds and consequently the energy rich phosphate bonds did not seem to be confined to a distinct part of the cytoplasm.

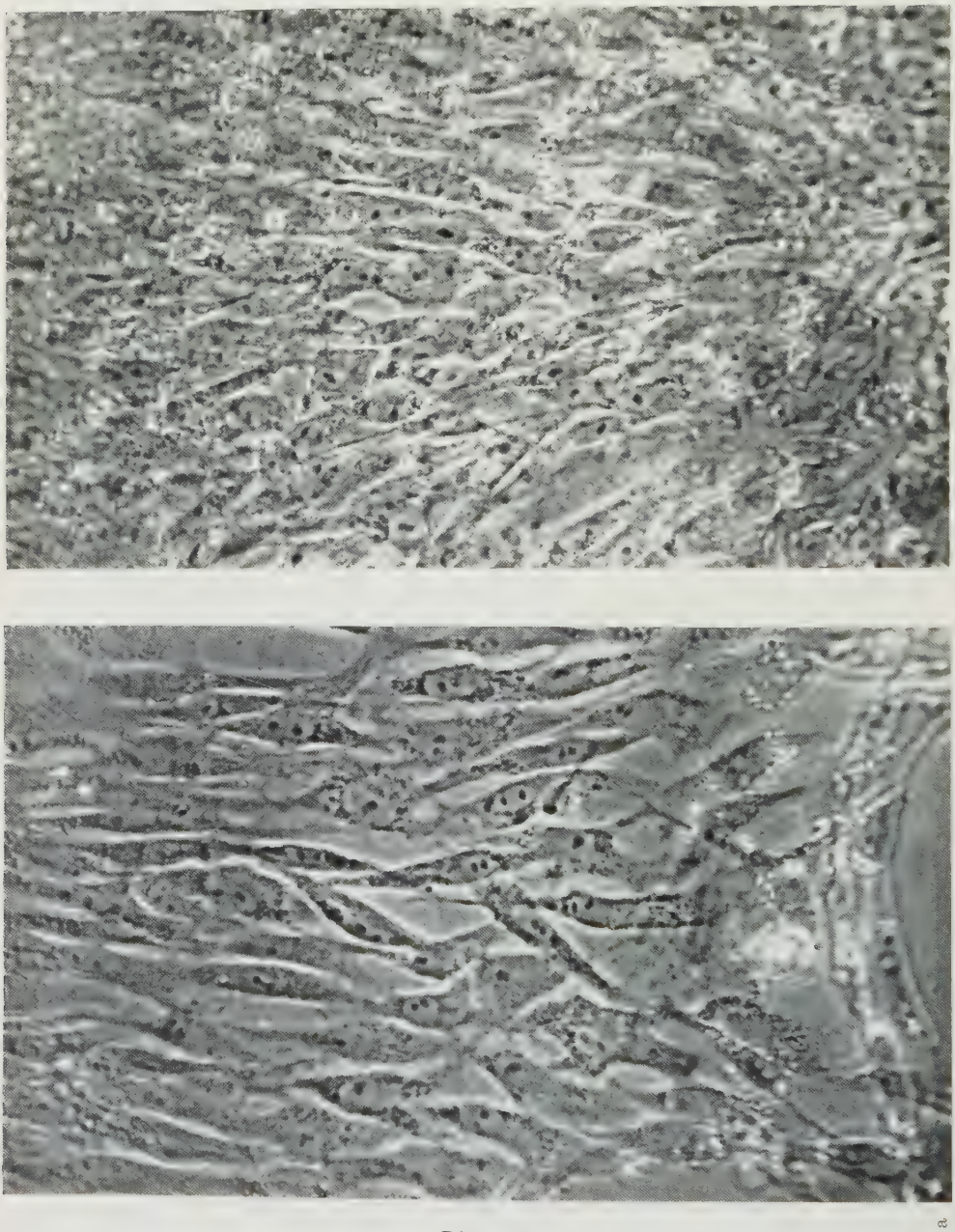


Fig. 6a and b. Cellularity of the outgrowth areas of chick heart cultures. a: On silicone (scarce network). b: On glass. Phase contrast. 340 ×

Discussion

Although the hydrophoby of silicone is much higher than that of the glass surface, the outgrowth areas in the presence of serum were nearly equal on both

substrates whereas without serum the growth stagnated irrespectively of the substratum. Since under circumstances of the present technique, i. e. cultivation

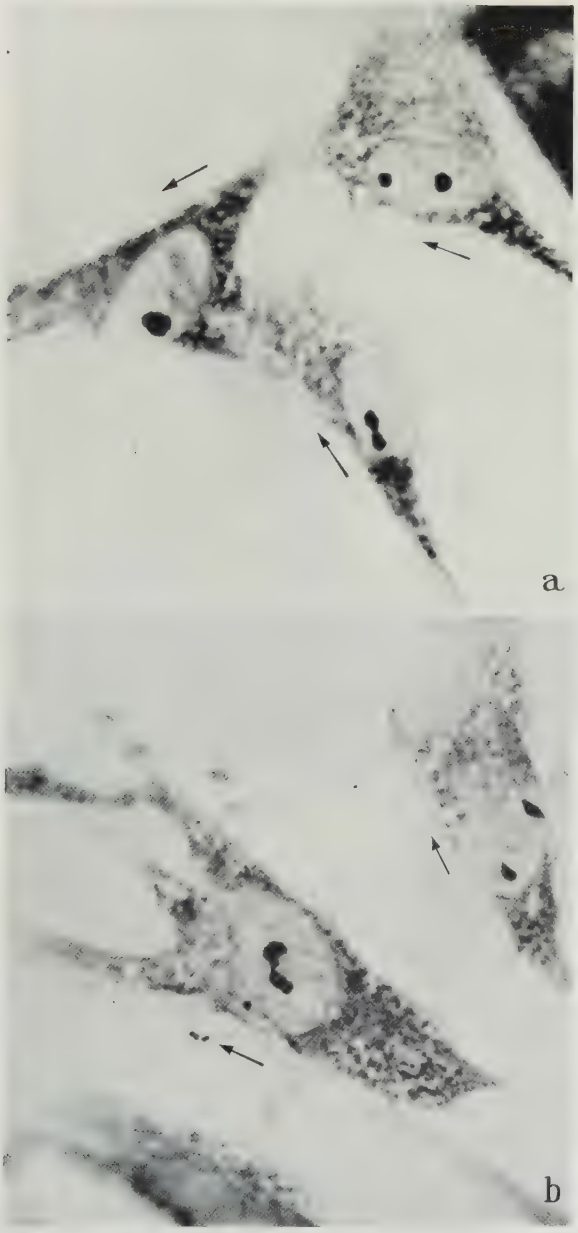


Fig. 7a and b. Migrating fibroblasts (a, b). Both Giemsa-stained, 540 ×

in a capillary layer of the liquid nutrient, the fundamental condition is the adherence of explant and of the growing cells to the substratum, there must be concluded that the process of cell attachment to the hydrophobic substratum requires the presence of serum.

In experiments with trypsinized cells of permanent lines, Weiss (1959) described that enzymatically treated cells need a higher concentration of serum for adhering to glass than washed but untrypsinized cells. Otherwise he gives no quantitative evaluation of the number of adherent cells but his results makes evident that cells deprived of serum by simple washing without enzymatic treatment do not attach to glass. The experiments presented here demonstrate that also in primocultures of tissue explants, cells need the serum for the attachment and proliferation on a hydrophobic substratum and consequently that the

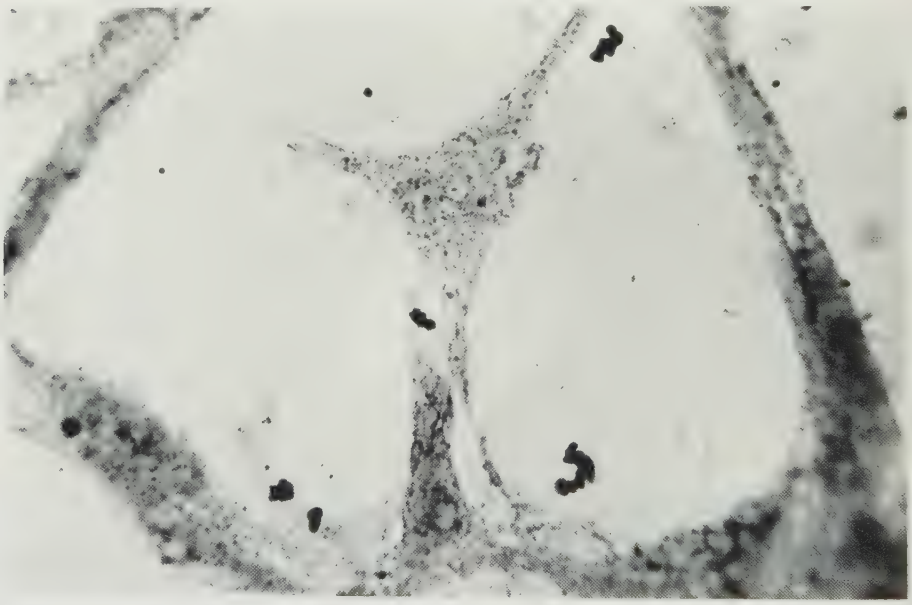


Fig. 8. Autoradiograph of a migrating fibroblast. Unstained, 540 ·

presence of serum is necessary for abolishing the physical influences of the hydrophoby.

For explanation of this phenomenon, the conclusion of Weiss (1959) that the adhesion of isolated cells on glass in the presence of serum is a consequence of the ability of serum to form an intermediate layer between the substratum and the cell, could essentially be accepted but cannot serve as an only reason. In fact, the difference that was found in cultures of fibroblasts between areas of outgrowth and mitotic activity, seems to indicate that other physicochemical phenomena besides the stickiness of the substratum to cells may have to be considered also. One may be the damage inflicted on the outer protein or lipoprotein layer of the cell surface by the substratum which might affect migration. It has been demonstrated for leucocytes (Tullis and Rochow 1952) that the cell membrane is damaged and ameboid movement slowed when the cells come into contact with a common wettable surface, while the non-wettable silicone has no such injurious effect. Another fact might be the influence of cultural conditions on the continuous sol-gel transformation in cytoplasm during cell locomotion. This process is considered as a cause of changes of the cross linkages which hold together a

network of polypeptide chains in the protoplasm and is depending on the presence of calcium. Experiments of Grand (cit. Owens, Gey and Gey 1958) and of Owens, Gey a. Gey (1958) showed that various tissue culture cells acquired in absence of Ca^{++} an elongate spindle shape, formed pseudopodia and migrated, whereas in the presence of the same ion they were rounded and mostly motionless. Similarly the migratory character of tumor cells was attributed to their reduced calcium contents by Coman (1954). It may be assumed that under conditions of the present plane surface cultivations, the hydrophoby of the substratum disturbed the gelification of the protoplasm which is necessary for the formation of outgrowth areas, so that the need of calcium enhanced and the serum supplement was unavoidable. Likewise a want of magnesium may be taken into account since Owens, Gey a. Gey (1958) found that magnesium-depleted cultures of mouse lymphoblasts arrested the growth rate. Very interesting are also the changes of cell morphology characterized by a thread-like appearance and high migratory activity of cells which has been observed by Owens et al. (1958) when the protein component of the medium was additionally reduced; this may be another explanation of the role of the serum supplement in experiments presented here. Indeed, the detailed analysis of the involved factors would need further studies.

Summary

1. Embryonic chick liver and intestine explants give rise to monolayer epithelial sheets when planted on a water-repellent silicone substratum or on glass in the presence of a serum exsudate.

2. Mitotic activity of fibroblasts from embryonic chick heart is lower on silicone than on glass while the areas of outgrowth differ lesser.

3. The presence of serum is necessary for the attachment and proliferation of cells in primocultures on plane hydrophobic substratum.

4. The possible mechanism of this phenomenon is briefly discussed.

References

Ceccaldi, P. F., R. Weill et O. de Charpal: Histo-Autoradiographie par précipitation in situ d'halogénures d'argent. Bull. Micr. appl., IIe s. **5**, 39—41 (1955).

Coman, D. R.: Cellular adhesiveness in relation to the invasiveness of cancer: Electron microscopy of liver perfused with a chelating agent. Cancer Res. **14**, 519—521 (1954).

Davies, H. G.: The ultra-violet absorption of living chick fibroblasts during mitosis. Exp. Cell Res. **3**, 453—461 (1952).

Ehrmann, R. L., and G. O. Gey: The growth of cells on a transparent gel of reconstituted rat-tail collagen. J. nat. Cancer Inst. **16**, 1375—1403 (1956).

Evans, V. J., and W. R. Earle: The use of perforated cellophane for the growth of cells in tissue culture. J. nat. Cancer Inst. **8**, 103—119 (1947).

Hillis, W. D., and F. B. Bang: Cultivation of embryonic and adult liver cells on a collagen substrate. Exp. Cell Res. **17**, 557—560 (1959).

Martin, A., and S. G. Tomlin: A technique for the cultivation and preparation of tissue cultures for electron microscopy. Biochim. biophys. Acta **5**, 154—165 (1950).

Owens, O. H. v., M. K. Gey and G. O. Gey: The effect of calcium and magnesium on the growth and morphology of mouse lymphoblasts (MB III, de Bruyn) in tissue culture. Cancer Res. **18**, 968—972 (1958).

Rerabek, J., u. E. Rerabek: Leitfaden der Gewebezüchtung. Jena: Gustav Fischer 1960.

Rochow, E. G.: An introduction to the chemistry of the silicone. London: Willey & Son. 1946.

Simms, H. S., and M. Sanders: Use of serum ultrafiltrate in tissue cultures for studying deposition of fat and for propagation of viruses. Arch. Path. (Chicago) **33**, 619—635 (1942).

Tullis, J. L., and E. G. Rochow: Non-wettable surfaces. Blood **7**, 850—853 (1952).

Weiss, L.: Studies on cellular adhesion in tissue culture. Exp. Cell Res. **17**, 499–507, 508–515 (1959).

Wirth, J., et G. Barski: Cultures epithéliales pures sur membranes plastiques sans repiquages sans plasma. Préparation rapide de cultures colorables comme des frottis. Ann. Inst. Pasteur **73**, 987—1002 (1947).

Dr. J. Rerabek, Praha 6, M. Schramma 27, Czechoslovakia

Zeitschrift für Zellforschung 53, 323—330 (1961)

Aus dem Anatomischen Institut der Universität Kiel (Direktor: Prof. Dr. med. W. Bargmann)

Über Gefässpaare im Gehirn der Katze*

Von

Kurt Fleischhauer

Mit 7 Textabbildungen

(Eingegangen am 15. September 1960)

Die Kenntnis des Gefäßverlaufs im Gehirn ist im Hinblick auf das Problem der Sauerstoffversorgung des Zentralnervensystems von besonderem Interesse. Auf Grund der bisher vorliegenden Untersuchungen wird allgemein angenommen, daß Arterien und Venen im Gehirn der Placentalier getrennt verlaufen. Paarige Gefäße sind im Nervengewebe höherer Säugetiere nicht beachtet und meines Wissens auch nicht beschrieben worden. Nur bei den phylogenetisch tiefstehenden Monotremen (Opossum) treten Arterien und Venen eng aneinandergeschmiegt gemeinsam in das Nervengewebe ein und verlaufen als paralleler Strang in die Tiefe (Lit. s. Peiffer 1928, Wislocki und Campbell 1937, Scharrer 1940, 1944).

Wie im folgenden gezeigt werden soll, kommen jedoch auch im Hirnstamm, im Hypothalamus und einigen anderen, phylogenetisch alten Abschnitten des Katzengehirns zahlreiche Gefäßpaare vor. Es handelt sich um parallel verlaufende Arterien und Venen kleineren Kalibers, die von einer gemeinsamen Gliahülle umgeben sind. Derartige Gefäßpaare fehlen im Neocortex der Katze.

Damit erhebt sich die Frage, ob sich Neocortex und phylogenetisch ältere Hirnabschnitte in bezug auf die Physiologie der Sauerstoffversorgung grundsätzlich voneinander unterscheiden; denn es wäre denkbar, daß der gemeinsame Verlauf der Gefäße an bestimmten Stellen des Gehirns einen Austausch von Sauerstoff und Kohlensäure zwischen arteriellem und venösem Blut — bzw. umgekehrt — zur Folge hat. Diese Frage kann, wie in der Diskussion näher ausgeführt werden wird, auf Grund der hier mitgeteilten morphologischen Befunde zunächst nur gestellt, aber noch nicht eindeutig beantwortet werden.

Material und Methode

Die Untersuchung wurde an je einer Frontal-, Horizontal- und Sagittalserie durch Gehirne erwachsener Katzen durchgeführt. Die Gehirne waren durch Perfusion der anaesthesierten Tiere mit Bouinscher Lösung fixiert und anschließend über Metylbenzoat in Paraffin eingebettet worden. Wie im einzelnen bereits früher beschrieben (Fleischhauer 1960) wurde ein Teil der 8—10 μ dicken Schnitte zur gleichzeitigen Darstellung von Gliafasern, Bindegewebe und Markscheiden mit einer Kombination der Luxol Fast Blue-Färbung nach Klüver und Barrera und der Trichromfärbung nach Goldner behandelt, während andere Schnitte zur fluoreszenzmikroskopischen Untersuchung der Faserglia mit Chromhämatoxylin-Phloxin nach Gomori gefärbt und in „Eukitt" eingedeckt wurden. Ein weiterer Teil des Materials wurde unter Verwendung von Protargol „Bayer" nach Bodian-Zinssmeir (1951) versilbert.

* Mit dankenswerter Unterstützung durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft.

Befunde

An Schnitten durch das Gehirn der Katze fallen — vor allem in Horizontal- und Sagittalserien — in bestimmten Regionen zahlreiche Stellen auf, an denen je eine Arterie und eine Vene dicht aneinandergeschmiegt und von einer gemein-

Abb. 1

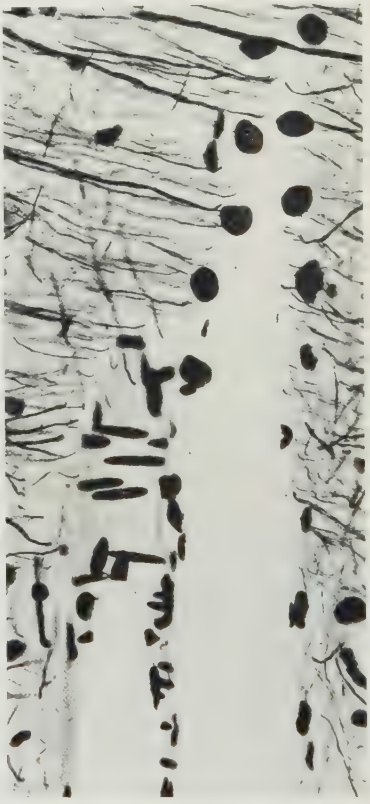


Abb. 2

Abb. 1. Gefäßpaar aus dem Septum pellucidum. Klüver-Goldner-Färbung. Arterie (*A*) und Vene (*V*) lagern sich erst unmittelbar vor ihrem Eintritt in die Gehirnsubstanz zu einem Gefäßpaar zusammen. Vergr. 100fach

Abb. 2. Gefäßpaar aus dem Septum pellucidum. Versilberung nach BODIAN-ZIESSMER. Nachbarschnitt zu der in Abb. 1 dargestellten Gegend. Arterie und Vene können gut unterschieden werden, denn nur die Arterie enthält glatte Muskulatur. Die trennende Schicht zwischen arteriellem und venösem Blut ist sehr dünn. Vergr. 360fach

samen Hülle umgeben sind. Derartige Gefäßkombinationen sollen im folgenden in Anlehnung an den von WISLOCKI und CAMPBELL (1937) in ihrer Arbeit über das Gehirn des Opossum verwendeten Ausdruck „paired vessels" als „*Gefäßpaare*" bezeichnet werden. Laufen mehr als zwei Gefäße in einer gemeinsamen Hülle, so wird von „Mehrfachgefäßen" die Rede sein.

a) Histologie. Die Gefäßpaare, deren Lumina in den vorliegenden Serien durch die Injektion der Fixierungsflüssigkeit maximal erweitert sind, haben *unterschiedliche Kaliber.* Dies wird aus Abb. 1 deutlich, die an einem medianen Sagittalschnitt eine Stelle aus dem Septum pellucidum wiedergibt, an der zwei Gefäßpaare verschiedener Stärke in das Gehirn eindringen. In den meisten

Gefäßpaaren beträgt der größte Durchmesser der Arterie etwa 40 μ, doch kommen auch Arterien mit bedeutend größeren (bis zu 70 μ) oder kleineren (bis herab zu 17 μ) Durchmessern vor. Die Venen sind gewöhnlich ein wenig weiter als die zugehörigen Arterien. In manchen Fällen ist die Vene aber auch enger oder bedeutend weiter als die Arterie (z. B. in Abb. 3).

Arterien und Venen sind in den Gefäßpaaren gegeneinander abgeplattet und berühren sich mit etwa einem Viertel ihres Umfanges (vgl. Abb. 5). Da sowohl die Venen als auch die Arterien eine im Verhältnis zu ihrem Umfang außer-

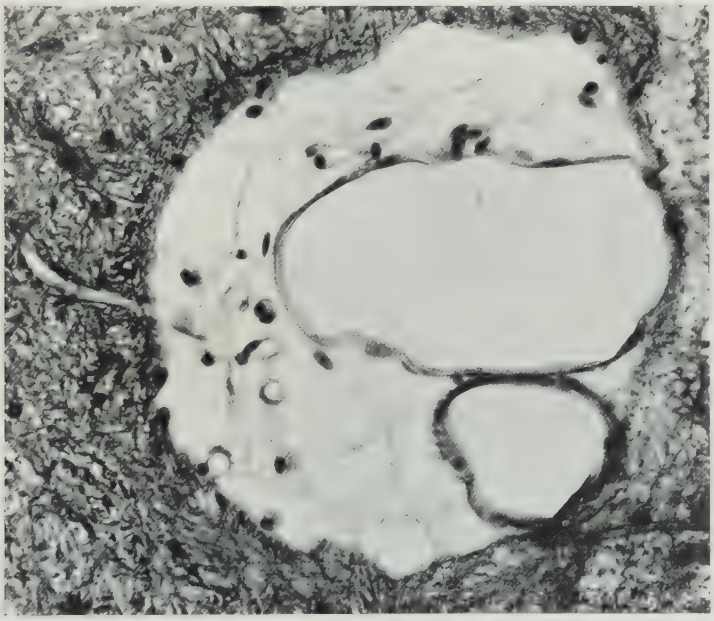


Abb. 3. Gefäßpaar aus der Medulla oblongata. Klüver-Goldner-Färbung. Das große Gefäßpaar ist von einem weiten Virchow-Robinschen Raum umgeben, der lockeres Bindegewebe enthält. In der linken Bildhälfte ist eine Kapillare zu erkennen, die in das Nervengewebe eintritt. Vergr. 360fach

ordentlich *dünne Wand* besitzen, sind arterielles und venöses Blut an den Berührungsstellen der beiden Gefäße nur durch eine schmale Gewebsschicht voneinander getrennt. Diese Schicht ist meist weniger als 2,5 μ dick. Wie dünn die trennende Wand zwischen arteriellem und venösem Blut selbst bei großkalibrigen Gefäßen ist, geht aus der Abb. 2 hervor, die das weitlumige Gefäßpaar der Abb. 1 auf einem versilberten Nachbarschnitt bei stärkerer Vergrößerung wiedergibt. Man erkennt rechts im Bild die rundlichen Kerne des Endothels der Vene, deren Wand augenscheinlich keine Muskelzellen enthält. Weiter links ist die Arterie angeschnitten. Ihr Endothel, dessen Kerne etwas länglicher sind, ist nur von einer dünnen Schicht glatter Muskelzellen umgeben. Wie die Untersuchung immer wieder zeigt, schieben sich an den Berührungsstellen von Arterien und Venen keine weiteren Zellen zwischen die Gefäße ein. Arterielles und venöses Blut sind also nur durch drei, bestenfalls vier Schichten stark abgeplatteter Zellen voneinander getrennt.

An manchen Stellen, vor allem im Bereich der Mittellinie des Hirnstammes, sind die Gefäßpaare von einem teilweise recht weiten *Virchow-Robinschen Raum*

umgeben. Dieser Raum ist von lockerem Bindegewebe durchsetzt und enthält gelegentlich feine Capillaren, die, wie die Abb. 3 zeigt, in das umgebende Nervengewebe eintreten. Der Virchow-Robinsche Raum grenzt seinerseits an eine faserreiche gliöse Scheide, die sich mit Hilfe der Fluorescenzmethode deutlich hervorheben läßt. In Abb. 4 sind die Verhältnisse an einem Horizontalschnitt durch die Mittellinie des Hirnstammes dargestellt. Beiderseits der als geschlängeltes Band aufleuchtenden gliösen Raphe sind große Gefäße angeschnitten, die teils als Gefäßpaare, teils aber auch als Einzel- oder Mehrfachgefäße senkrecht vom Subarachnoidalraum aus bis dicht unter den vierten Ventrikel emporsteigen. Die meisten dieser Gefäße sind hier von einem mehr oder weniger weiten Virchow-Robinschen Raum umgeben. Während die bindegewebigen Anteile des Virchow-Robinschen Raums in Abb. 4 nicht zu erkennen sind, leuchtet

Abb. 4

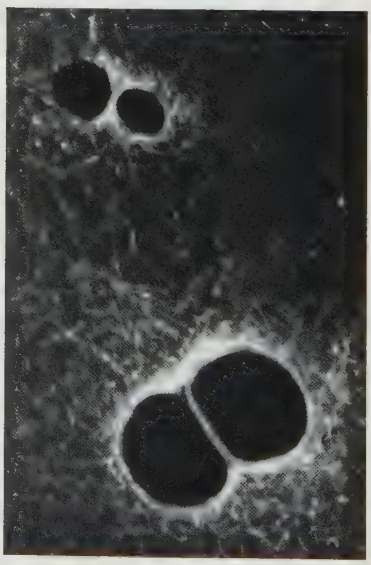


Abb. 5

Abb. 4. Gefäßpaar aus der Medulla oblongata. Mit Chromhämatoxylin-Phloxin gefärbter Paraffinschnitt im Fluorescenzlicht. Die gliöse Raphe der Mittellinie sowie die gliösen Hüllen der Gefäßpaare leuchten hell auf. Vergr. etwa 300fach

Abb. 5. Gefäßpaare aus dem Nucleus supraopticus. Mit Chromhämatoxylin-Phloxin gefärbter Paraffinschnitt im Fluorescenzlicht. Die kleineren Gefäßpaare sind von einer dicht anliegenden, hell aufleuchtenden Gliahülle umgeben. Vergr. etwa 320fach

die gliöse Hülle hell auf. Sie besteht aus zahlreichen Gliafasern, die, wie die punktförmigen Anschnitte zeigen, zum größten Teil parallel zu den Gefäßen verlaufen.

Nur ein kleiner Teil der Gefäßpaare ist aber von einem Virchow-Robinschen Raum umgeben. Die Mehrzahl der paarigen Gefäße grenzt direkt an die gliöse

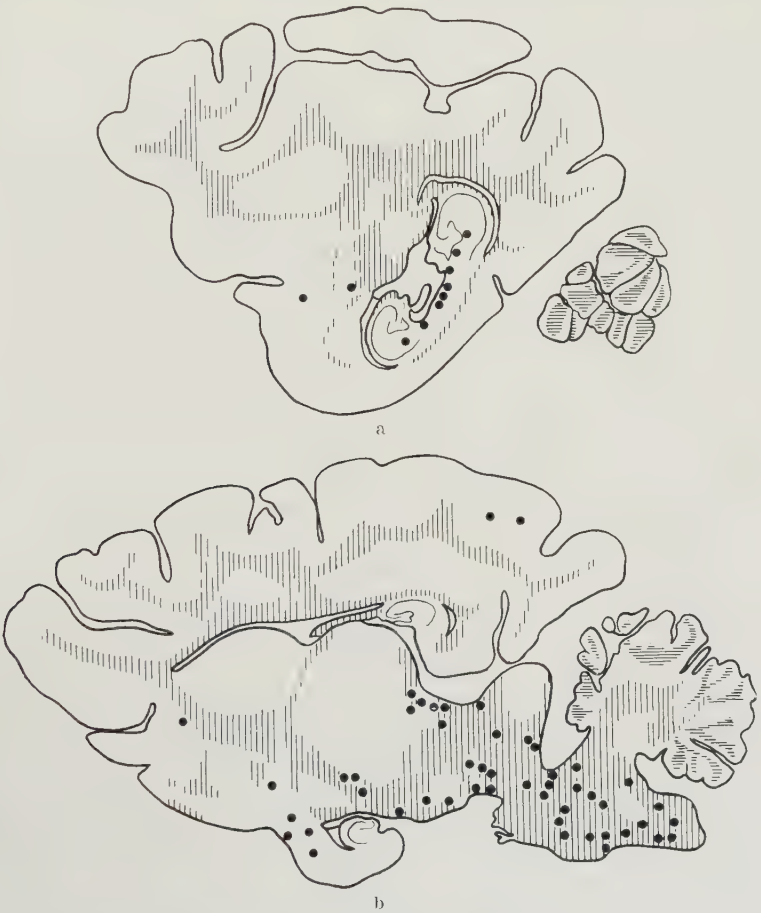


Abb. 6a u. b. Halbschematische Wiedergabe von zwei Schnitten aus einer Sagittalserie durch das Gehirn einer erwachsenen Katze. Schwarze Punkte: Stellen, an denen ein Gefäßpaar geschen wurde. Von zwei Ausnahmen im dorsalen Bereich der Hirnrinde abgeschen, finden sich Gefäßpaare nur im Hirnstamm, in der Ammonsformation und in der Rinde des Lobus pyriformis

Scheide und ist fest in das Hirngewebe eingebaut (Abb. 5, vgl. auch Abb. 1). Im Bereich des Nucleus supraopticus findet man zwischen den dicht gelagerten Gliafasern der Gefäßscheide nicht selten kleinere oder größere Herring-Körper.

b) *Verteilung.* Die Abb. 6 und 7 geben in halbschematischer Darstellung einige repräsentative Horizontal- und Sagittalschnitte wieder, in denen das Vorkommen quergetroffener Gefäßpaare durch schwarze Punkte symbolisiert ist. Wie aus diesen Abbildungen hervorgeht, werden Gefäßpaare bei der Katze nur in den folgenden, phylogenetisch alten Hirnabschnitten angetroffen: in der Medulla oblongata, im Mittelhirn, Hypothalamus, Septum pellucidum, in der

Ammonsformation und in der Rinde des Lobus pyriformis. In der Rinde des Kleinhirns, im Bulbus olfactorius und im Neocortex wurden dagegen — mit

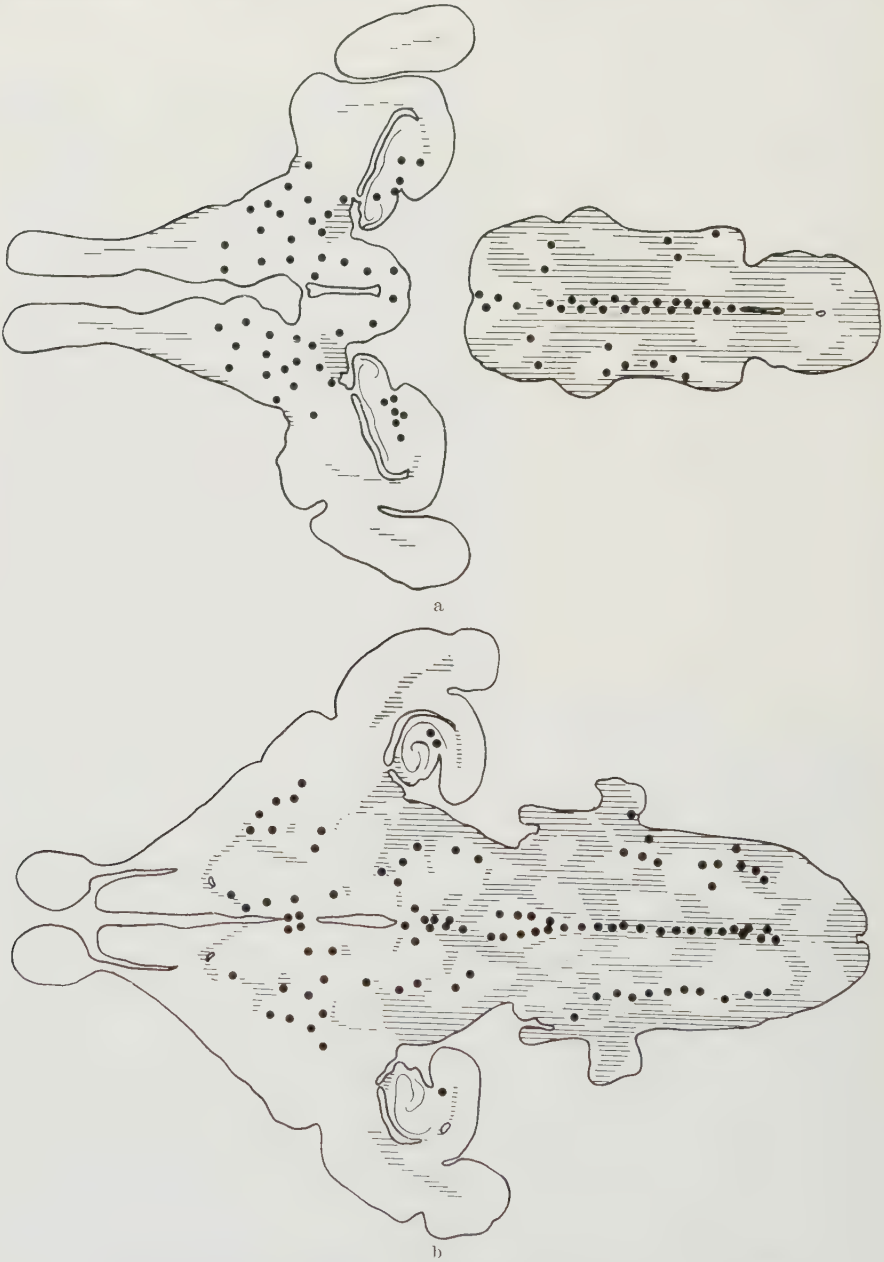


Abb. 7a u. b. Halbschematische Wiedergabe von zwei Schnitten aus einer Horizontalserie durch das Gehirn einer erwachsenen Katze. Schwarze Punkte: Stellen, an denen ein Gefäßpaar gesehen wurde. Neocortex, Bulbus olfactorius und Kleinhirn enthalten keine Gefäßpaare

einer einzigen Ausnahme von zwei paarigen Gefäßen in der occipitalen Rinde (Abb. 6b) — keine Gefäßpaare vorgefunden; Arterien und Venen treten hier

einzeln in das Gehirn ein und verlaufen getrennt, wie es dem bei Scharrer (1940) abgebildeten Schema entspricht.

In allen Abschnitten des Gehirns, in denen Gefäßpaare vorkommen, wurden auch einzeln verlaufende Arterien und Venen entsprechenden Kalibers gefunden. Es bleibt festzustellen, ob diese Gefäße mit den Gefäßpaaren zusammenhängen oder ob hier innerhalb eines Gehirnabschnittes verschiedene Formen der Gefäßversorgung nebeneinander vorkommen.

Wie bereits erwähnt und in Abb. 4 illustriert, stößt man im Gehirn der Katze außer auf Gefäßpaare gelegentlich auch auf Mehrfachgefäße. Sie kommen vor allem in der Medulla und im Mittelhirn beiderseits der Medianlinie vor. Im Hypothalamus, Septum pellucidum, Lobus olfactorius und in der Ammonsformation ist dagegen die Zahl der Mehrfachgefäße im Verhältnis zur Zahl der Gefäßpaare gering.

Obgleich in der nervösen Substanz des Kleinhirns keine Gefäßpaare angetroffen wurden, fiel auf, daß in den Läppchenfissuren die Gefäße oft eng beieinanderliegen und bei oberflächlicher Betrachtung gelegentlich an echte Doppelgefäße erinnern. Arterie und Vene sind jedoch meistens durch eine Schicht kollagenen Bindegewebes voneinander getrennt und auch der weitere Verlauf der Gefäße weist darauf hin, daß es sich hier um eine von den Gefäßpaaren prinzipiell verschiedene Bildung handelt. Möglicherweise kommt die enge Nachbarschaft von Arterien und Venen in dem septenartig zusammengepreßten Bindegewebe der Fissuren durch die starke Reduktion des Subarachnoidalraums zustande.

Diskussion

Gefäßpaare sind bisher nur in den Gehirnen einer Reihe niederer Wirbeltiere und des Opossum nachgewiesen worden. Sie kommen jedoch, wie die vorliegenden Befunde zeigen, auch im Gehirn der Katze vor. Sie finden sich hier in der Medulla oblongata, im Mittelhirn, Hypothalamus, Septum pellucidum, in der Ammonsformation und im Lobus olfactorius. Neocortex und Kleinhirn der Katze enthalten dagegen keine Gefäßpaare.

Angesichts dieser eigentümlichen Verteilung ist man zunächst versucht anzunehmen, daß hier ein prinzipieller Unterschied in der Gefäßversorgung phylogenetisch alter und junger Gehirnabschnitte zutage trete. Eine solche Deutung muß jedoch mit der größten Skepsis betrachtet werden, denn die Gefäßpaare fehlen in manchen phylogenetisch alten Regionen, z. B. im Bulbus olfactorius. Es wird weiterer Untersuchungen an einem umfangreichen vergleichend-anatomischen und embryologischen Material bedürfen, um herauszufinden, ob die eigenartige Verteilung der Gefäßpaare auf Grund phylogenetischer Überlegungen gedeutet werden kann oder ob sie von anderen — z. B. entwicklungsphysiologischen — Faktoren abhängt, die von Spezies zu Spezies wechseln und keine unmittelbare Beziehung zur phylogenetischen Stellung des jeweils untersuchten Tieres erkennen lassen.

Sieht man die eigenartige Gestalt der von einem gemeinsamen Gliamantel umhüllten Gefäßpaare vor sich und überlegt man sich, daß hier eine dünne Arterienwand über eine lange Strecke hinweg an eine noch dünnere Venenwand angeschmiegt ist, so taucht die Frage auf, was an diesen Berührungsstellen wohl während des Lebens geschehen mag. Wie Scharrer (1944) ausführt, hat Craigie

(1938) diese Frage bereits in einer mir im Original leider nicht zugänglichen Arbeit gestellt und dahingehend beantwortet, daß das Vorkommen von Gefäßpaaren einen Austausch von Blutgasen zwischen arteriellem und venösem Blut bewirke: CO_2 könne aus dem venösen Blut in das arterielle und O_2 aus dem arteriellen in das venöse Blut diffundieren. Bedenkt man, daß einerseits die Diffusionsleitfähigkeit (Kroghscher Diffusionskoeffizient) für CO_2 etwa 25mal größer ist als für O_2 und daß andererseits die Druckdifferenz zwischen arteriellem und venösem Blut nur 10mal geringer ist (Thews 1960, Siesjö und Thews 1960), so kann man diese pauschale Aussage präzisieren und annehmen, daß in den Gefäßpaaren mehr CO_2 als O_2 ausgetauscht wird. Nur Untersuchungen von physiologischer Seite können jedoch klären, ob bei der Katze im Bereich der Gefäßpaare Austauschvorgänge stattfinden, die ein Ausmaß erreichen, das im Hinblick auf die Sauerstoffversorgung des Nervengewebes ins Gewicht fällt.

Summary

Paired vessels, consisting of one artery and one vein, have so far only been described in the brains of some lower vertebrates and in the brains of marsupials (opossum). However, as shown in this paper, similar vessels also occur in the medulla oblongata, midbrain, hypothalamus, septum pellucidum, hippocampus and in the olfactory lobe of the cat's brain. In the neocortex and in the cerebellum no such vessels could be traced. — Whereas some paired vessels are first surrounded by connective tissue (Virchow-Robin's space) and then by a layer of glial fibres, most of the vessels are only ensheathed by a coat of glial fibres. These and other histological details are described and some functional implications are discussed under the assumption that the paired vessels allow diffusion of blood gases between venous and arterial blood and vice versa.

Literatur

Craigie, E. H.: The blood vessels of the brain substance in some amphibians. Proc. Amer. philos. Soc. **78**, 615—649 (1938). Zit. nach Scharrer (1944).

Fleischhauer, K.: Fluorescenzmikroskopische Untersuchungen an der Faserglia. Z. Zellforsch. **51**, 467—496 (1960).

Pfeifer, R. A.: Die Angioarchitektonik der Großhirnrinde. Berlin: Springer 1928.

Scharrer, E.: Arteries and veins in the mammalian brain. Anat. Rec. **78**, 173—195 (1940). — The blood vessels of the nervous tissue. Quart. Rev. Biol. **19**, 308—318 (1944).

Siesjö, B., u. G. Thews: Ein Verfahren zur Bestimmung des CO_2-Diffusionskoeffizienten, der CO_2-Leitfähigkeit und des CO_2-Löslichkeitskoeffizienten im Gehirngewebe. (In Vorbereitung.)

Thews, G.: Die Sauerstoffdiffusion im Gehirn. Pflügers Arch. ges. Physiol. **271**, 197—226 (1960).

Wislocki, G. B., and A. C. P. Campbell: The unusual manner of vascularisation of the brain of the opossum (Didelphys virginiana). Anat. Rec. **67**, 177—191 (1937).

Ziessmer, Ch.: Eine Verbesserung der Silber-Imprägnierung nach Bodian. Z. wiss. Mikr. **60**, 57—59 (1951).

Priv.-Doz. Dr. K. Fleischhauer, Anatomisches Institut der Universität Kiel, Neue Universität, Eingang F 1
z. Z. National Institute for Medical Research, Mill Hill, The Ridgeway, London N.W. 7

Zeitschrift für Zellforschung 53, 331—338 (1961)

Aus dem Zoologischen Institut, Bonn

DIE WIRKUNG DES TRIÄTHYLENMELAMINS (TEM) AUF DAS GEWEBE VON HÜHNEREMBRYONEN

Von

Rolf Danneel und Helga Schumann

Mit 7 Textabbildungen

(Eingegangen am 18. Oktober 1960)

A. Einleitung

Triäthylenmelamin, kurz als TEM bezeichnet, wird in der Humanmedizin bei der Behandlung der lymphatischen Leukämie und anderen Tumoren verwendet. So konnten Rose, Hendry und Walpole schon 1950 zeigen, daß das Wachstum des Walker-Carcinoms bei Ratten durch intravenöse und intraperitoneale TEM-Injektionen um 90% gehemmt wird. Alle diese therapeutischen Wirkungen des TEM beruhen auf einer Unterdrückung der Zellvermehrung.

Da TEM die Mitosenrate stark herabsetzt, kommt seine Wirkung vor allem in solchen Geweben und Organen zur Geltung, die sich durch eine besonders große Zellvermehrung auszeichnen. So fanden Jackson und Bock (1955) eine selektive Wirkung des TEM auf die männlichen Keimdrüsen. Die Behandlung führte bei Ratten zu einer 100%igen Sterilität als Folge der langdauernden Unterdrückung der Spermatogenese. Darüber hinaus besitzt das TEM nach Cattanach (1957) bei Mäusen auch eine mutagene Wirkung, die diejenige von Senfgas und Röntgenstrahlen sogar noch übertrifft.

Bei Regenerationsgeweben, die ja ebenfalls durch eine große Mitosenrate charakterisiert sind, führt das TEM eine Regenerationsverzögerung herbei. Pedersen (1958) konnte an regenerierenden Planarien zeigen, daß hier die Mitosen der Neoblasten unterdrückt werden, wodurch natürlich der Regenerationsablauf gestört wird. Daß die Regenerationsstörung ihre Ursache in der Mitosehemmung hatte, ging daraus hervor, daß die Wirkung ausblieb, wenn das TEM erst nach der Bildung der Neoblasten verabreicht wurde. Auf die Neoblastendifferenzierung und ihre Wanderung war das TEM also wirkungslos.

Eine weitere Folge der Mitosenunterdrückung ist die nach TEM-Injektionen stets zu beobachtende Wachstumshemmung. Nach Truhaut und Deysson (1955) beschränkt sich die Wachstumshemmung keineswegs auf tierische Organismen, sondern läßt sich auch an den Wurzeln junger Erbsen nachweisen.

Worauf die mitosehemmende Wirkung des TEM beruht, ist noch nicht sicher geklärt. Fraglich ist auch, ob das TEM im engsten Sinne des Wortes als Mitosengift bezeichnet werden kann. Seine Wirkung scheint vielmehr biochemischer Natur zu sein und sich auch auf den Interphasekern zu erstrecken. Bodenstein (1954) hat jedenfalls durch quantitative Untersuchungen gezeigt, daß das TEM wahrscheinlich die DNS-Synthese stört oder hemmt.

Die vorliegende Arbeit liefert keinen Beitrag zu dieser biochemischen Wirkung des TEM. Uns interessierte vielmehr die Frage, wie embryonales Gewebe, das ja gleichfalls sehr schnell wächst, auf eine TEM-Behandlung reagiert.

B. Material und Methoden

Für sämtliche Versuche haben wir Embryonen von *weißen Leghorns* verwendet und zwar für die histologischen Untersuchungen vorwiegend zwei Entwicklungsstadien:

1. Leghorneier, die 26 Std lang bebrütet, dann mit je 10 γ TEM gespritzt und anschließend noch weitere 24 Std bebrütet wurden, so daß die Embryonen bei der Eieröffnung 50 Std alt waren.

2. 32 Std lang bebrütete Eier, die mit je 10 γ TEM gespritzt und nach weiteren 24 Std eröffnet wurden, wonach die Embryonen also 56 Std alt waren.

Um die Wirkungsschwelle des TEM festzustellen, haben wir außerdem noch vier schwächere TEM-Konzentrationen verwendet, und zwar injizierten wir in 26 Std bebrütete Eier je 1 γ, 0,5 γ, 0,25 γ und 0,1 γ TEM. Die Eier wurden anschließend weitere 24 Std bebrütet, so daß die entnommenen Embryonen wiederum 50 Std alt waren.

Zur Beimpfung der Embryonen mit TEM wurden die Eier an ihrem stumpfen Pol mit einer Präpariernadel an zwei Stellen angestochen. Das in Aqua dest. gelöste TEM wurde mit Hilfe einer Injektionsspritze in die Luftkammer injiziert und gelangte von dort aus durch Diffusion zu dem Embryo. Die Einstichöffnungen wurden dann mit Paraffin verklebt und die Eier weiter bebrütet.

Für die histologischen Untersuchungen wurden die Embryonen nach Bouin oder Carnoy fixiert. Färbungen: Hämalaun-Eosin, Hämatoxylin. — Über die *Planimetrierung und Bestimmung* der *Kernvolumina* siehe S. 334.

Für die Kulturen wurden Gewebestückchen von Embryonen entnommen, die nach 36stündiger Bebrütung mit je 10 γ TEM gespritzt und dann weitere 24 Std bebrütet worden waren, wonach die Embryonen also 60 Std alt waren. Züchtung der Kulturen in Maximow-Kammern. Kulturmedium: Embryonalextrakt, Hühnerplasma, menschliches Nabelschnurserum und PC-Lösung. Nach 36stündiger Züchtung bei 36°C fixierten wir die Kulturen mit Osmiumtetroxyd und entwässerten über Aceton. Die Kulturen wurden nicht geschnitten, sondern zur Untersuchung ganz in Eukitt eingebettet.

C. Ergebnisse

I. Histologische Beobachtungen

Als histologisches Kriterium für die TEM-Wirkung diente das *Neuralrohr* der mit 10 γ TEM gespritzten Embryonen. Wie Voruntersuchungen ergeben hatten, gelten die Befunde aber auch für die Somiten und die Chorda (vgl. Jurand 1958). Im Neuralrohr liegen also keine Sonderverhältnisse vor.

1. Die wachstumshemmende Wirkung des TEM auf das Neuralrohr des Hühnerembryos. Beim makroskopischen Vergleich der TEM-behandelten Hühnerembryonen mit gleichaltrigen Kontrollen fiel zunächst auf, daß die TEM-Tiere stets kleiner waren als die unbehandelten Embryonen. Durch diese Wachstumshemmung wird aber keine Verlangsamung des Differenzierungsablaufes bewirkt. Der Differenzierungszustand der Organanlagen war vielmehr bei gleichaltrigen behandelten und unbehandelten Embryonen stets der gleiche.

Auf Querschnitten durch das Neuralrohr der vorderen Rumpfregion von TEM-Tieren und den zugehörigen Kontrollen sieht man den Größenunterschied deutlich (Abb. 1, 2). Auffallend ist ferner die Formveränderung des Neuralrohres. Das normalerweise ovale Neuralrohr erscheint nach der TEM-Behandlung im Schnitt nahezu kreisrund.

Zur Flächenmessung wurden 120 Neuralrohrquerschnitte bei gleicher Vergrößerung photographiert und dann planimetriert. Die Differenz zwischen der gesamten Neuralrohrfläche und dem Lumen des Zentralkanals lieferte dann die Fläche des zelligen Anteils des Neuralrohres. Die Flächenmittelwerte lagen bei den Kontrollen 3,4 mal so hoch wie bei den TEM-behandelten Tieren und zwar

sowohl bei den 50 Std als auch bei den 56 Std alten Embryonen. Schon das viel weniger differenzierte, oben noch offene Neuralrohr eines unbehandelten 45 Std alten Embryos ist im Querschnitt größer als das des 50 Std alten TEM-Embryos (Abb. 3).

Bei den Kontrollen hatte sich die Fläche von der 50. bis zur 56. Stunde der Bebrütung im Verhältnis 1:1,25 vergrößert. Dasselbe galt für die TEM-Embryonen; der relative Zuwachs war also in beiden Fällen völlig gleich.

2. Vergleich der Mitosenhäufigkeit und der Zellkernanzahl im Neuralrohr von unbehandelten und mit TEM behandelten Embryonen. Mitosen sind die Voraussetzung für jedes echte Wachstum. Nach Sauer (1935) findet man die Mitosen im Neuralrohr des Hühnchens immer in der Nähe des Neuralkanales. Die Kerne wandern dann nach der Teilung nach außen ab, kehren aber vor der nächsten Mitose wieder zum Lumen zurück. Dasselbe gilt für die TEM-Tiere. Auch hier finden alle noch vorhandenen Mitosen in der Nähe des Neuralkanales statt.

Mitotische Teilungen sind aber, wie gesagt, bei den mit TEM behandelten Embryonen äußerst selten. So haben wir in 30 Neuralrohrquerschnitten von unbehandelten Embryonen (50 Std alt) 191 Mitosen gezählt, fanden bei den behandelten Tieren dagegen nur 12, d. h. 6,3% der normalen Zellteilungen. Bei den 56 Std alten Embryonen standen den 258 Mitosen der Kontrollen nur 16 bei den behandelten Tieren gegenüber, d. h. 6,2%.

Die unmittelbare Folge der Mitosehemmung ist eine starke Herabsetzung der Zellkernanzahl (Abb. 1, 2). Genaue Auszählungen in insgesamt 120 Neuralrohrquerschnitten ergaben für die 50 Std lang bebrüteten Kontrollembryonen pro Neuralrohrquerschnitt einen Mittelwert von 174 Zellkernen bei einer Streuung von $\pm 34{,}7$. Die gleichaltrigen TEM-Embryonen besaßen im Durchschnitt nur 24,8 Zellkerne pro Neuralrohrquerschnitt, wobei die Streuung $\pm 3{,}7$ betrug. Der Vergleich dieser Zahlen zeigt, daß das Neuralrohr der mit TEM behandelten Hühnchenembryonen nur noch 14% der normalen Kernanzahl enthielt.

Ähnlich lagen die Verhältnisse bei den 56 Std alten Embryonen. Hier betrug der Mittelwert der Zellkernanzahl pro Neuralrohrquerschnitt bei den Kontrollen 257,5 (Streuung $\pm 49{,}4$), bei den TEM-Tieren 36,2 Kerne (Streuung $\pm 3{,}6$). Auch hier besaß der behandelte Embryo nur noch 14% der normalen Kernanzahl.

Die Kernanzahl (14%) wird, wie man sieht, durch die TEM-Behandlung nicht so stark herabgesetzt wie die Anzahl der Mitosen (6,3%). Diese Differenz beruht sicher darauf, daß die Einspritzung des TEM nicht gleich zu Beginn der Embryonalentwicklung vorgenommen wurde, daß also die Embryonen vor der Injektion alle die gleiche Chance der Zellvermehrung hatten.

3. Die Größenzunahme der Zellkerne nach der TEM-Behandlung. Eine weitere auffällige Wirkung des TEM besteht in der Bildung von Riesenzellen und Riesenkernen, die schon Töndury (1955) bei TEM-behandelten Amphibienaugen gesehen hat. Waddington (1958), der an Amphibienembryonen arbeitete, fand Riesenkerne vor allem in den Zellen des Neuralrohres, eine Beobachtung, die Jurand (1958) für Hühnerembryonen bestätigte, wo auch die Chorda und die Somiten Riesenkerne enthielten. Wir können diese Befunde bestätigen, doch haben wir nur die Größe der Neuralrohrkerne genauer untersucht.

Für die Untersuchungen wurden die Längs- und Querachsen von je 200 Kernen gemessen und zwar nur von Kernen mit einer normalen ovalen Form, die im Präparat mindestens einen Nukleolus erkennen ließen, bei denen der Schnitt also ungefähr durch die Mitte der Kerne ging. Das Zellkernvolumen wurde dann nach der Formel $v = 4/3\ ab^2\pi$ errechnet, wobei a bzw. b der halben Längs- bzw. Querachse entsprach. Die Errechnung der vielen Kernvolumina übernahm dankenswerterweise das Institut für Angewandte Mathematik in Bonn.

Abb. 1. Querschnitt durch das Neuralrohr eines 50 Std alten, unbehandelten Hühnchenembryos (Bouin, Hämatoxylin, Vergr. 480×)

Das mittlere Zellkernvolumen betrug bei den unbehandelten Embryonen 102,4 μ^3 mit einer Streuung von $\pm$ 21,5, während sich das Kernvolumen bei den TEM-Embryonen auf 236,4 μ^3 (Streuung $\pm$ 20,9) belief. Die Kernvolumina der TEM-Tiere verhalten sich somit zu denen der Kontrollen wie 2,3:1, waren also mehr als doppelt so groß. Ob es sich hier um eine Polyploidisierung handelt, ließ sich nicht feststellen, weil wir aus technischen Gründen keine genauen Chromosomenzählungen vornehmen konnten.

Bei den TEM-behandelten Hühnchenembryonen treten in den Somiten, im Notochord und im Neuralrohr neben den Riesenkernen in zunehmendem Maße Pyknosen auf. Da solche aber in den Gewebekulturen (s. unten) fehlten, muß man ihr Auftreten wohl auf Ernährungsschwierigkeiten zurückführen.

Gewebekulturen haben wir angesetzt, um den Ablauf der Mitosen und vor allem das weitere Schicksal der durch TEM-Wirkung vergrößerten Kerne verfolgen zu können, da ja die Embryonen im Ei zu früh absterben.

II. Untersuchungen an Gewebekulturen

Die Gewebestückchen, die 60 Std alten, mit je 10 γ TEM behandelten Hühnerembryonen entnommen wurden, enthielten verschiedene Gewebe, da die Embryonen zu dieser Zeit noch so klein waren, daß wir sie nur ganz grob in etwa gleich große Teile zerlegen konnten. Diese Stücke wurden dann 36 Std lang in vitro gezüchtet. Dabei stellte sich heraus, daß die TEM-Kulturen sehr viel schlechter auswuchsen als die entsprechenden Kontrollen. Die Mitosehemmung durch TEM machte sich also auch hier deutlich bemerkbar.

1. Die Mitosen. In fixierten Gewebekulturen findet man zwei Typen von Mitosen. Die meisten Zellteilungen verlaufen auch im TEM-Gewebe vollkommen normal und unterscheiden sich nicht von Kontrollmitosen. Dieser Befund ist nicht überraschend, da ja sicher nicht alle Zellen in gleichem Maße von der TEM-Wirkung betroffen werden.

Bei einem zweiten Mitosentyp verläuft die Teilung so ungeordnet, daß es überhaupt nicht mehr zu einer neuen Kernbildung kommt. Die chromatische Substanz bleibt hier in mehr oder weniger verklumpter Form im Plasma liegen.

2. Der Interphasekern. Die auffallendste und häufigste Erscheinung in den Kulturen von TEM-Gewebe war die amitotische Kernteilung, die genauso verlief, wie die von WENDT (1959) beschriebene Kernteilung in bestrahlten Zellen. Ein Beispiel zeigt Abb. 4. Hier hat sich der Riesenkern amitotisch in zwei fast gleich große Kerne geteilt, die nur noch oben durch eine dünne Verbindung zusammenhängen. Diese Art der Teilung kommt in den TEM-Kulturen besonders häufig vor. Auffallend ist die starke Auflockerung der Nukleolarsubstanz, die in den Kernen der TEM-Kulturen regelmäßig auftrat. Der Nukleolus kann aber auch verschiedene andere Formen annehmen.

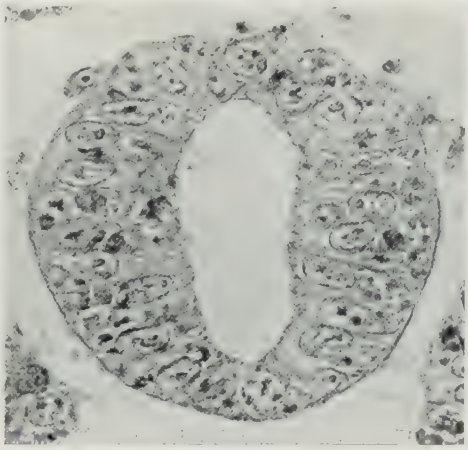


Abb. 2. Neuralrohr eines 50 Std alten, mit 10 γ TEM behandelten Hühnchenembryos im Querschnitt (Bouin, Hämatoxylin, Vergr. 480×)

Abb. 3. 45 Std alter, unbehandelter Embryo. Neuralrohrquerschnitt (Bouin, Hämatoxylin, Vergr. 480×)

Wie nach Röntgenbestrahlungen teilt sich der Kern auch bei den TEM-Kulturen durchaus nicht immer in gleich große Teile, sondern kann auch mehr oder weniger große Knospen abschnüren, wie Abb. 5 zeigt. Dies kann so weit gehen, daß Zellen mit einer Vielzahl von Kernen verschiedenster Größe entstehen, die aber alle noch Nukleolarsubstanz enthalten (Abb. 6) und ganz offensichtlich aus einem einzigen Mutterkern hervorgegangen sind.

Nicht alle amitotisch entstandenen Tochterkerne sind lebensfähig. In vielkernigen Zellen treten vielmehr fast immer bei einzelnen Kernen Nekrosen auf.

So hängen die beiden Kerne in Abb. 7 zwar noch durch eine dünne Verbindung aneinander, doch ist in dem einen Kern das Chromatin bereits entmischt und verklumpt.

Alle diese Reaktionen der Kerne auf die TEM-Behandlung stimmen, wie gesagt, mit dem von Wendt beobachteten Verhalten bestrahlter Kerne in ganz auffälliger

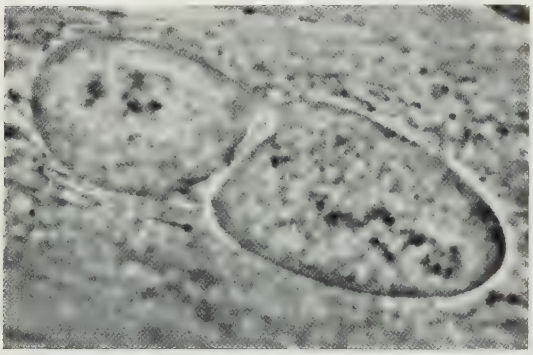


Abb. 4

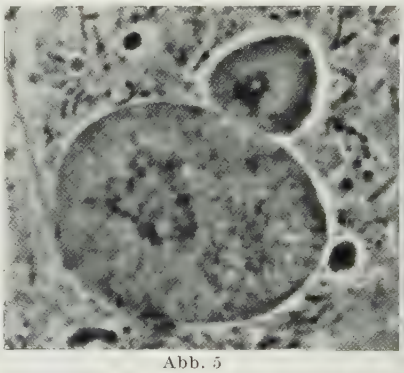


Abb. 5

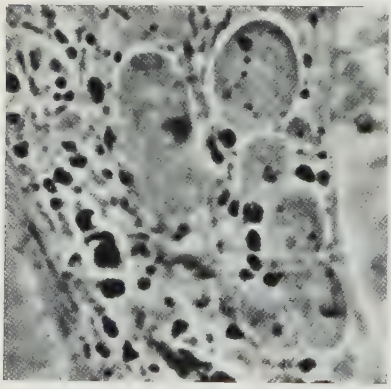


Abb. 6

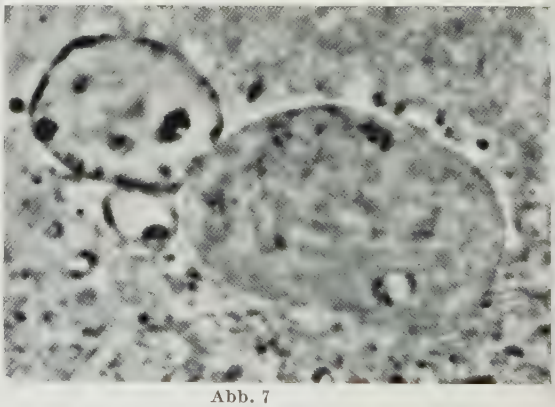


Abb. 7

Abb. 4. Durch Amitose aus einem Riesenkern hervorgegangene gleich große Kerne, die noch durch eine dünne Verbindung zusammenhängen (TEM-Kultur, Phasenkontrastaufnahme, OsO_4, Vergr. 1280×)

Abb. 5. Abschnürung einer Knospe bei einem Riesenkern (TEM-Kultur, Phasenkontrastaufnahme, OsO_4, Vergr. 1280×)

Abb. 6. Zelle mit vielen, durch Amitose entstandenen Zellkernen verschiedener Größe (TEM-Kultur, Phasenkontrastaufnahme, OsO_4, Vergr. 1280×)

Abb. 7. Zwei amitotisch entstandene Zellkerne. In dem linken absterbenden Zellkern hat sich das Chromatin bereits entmischt (TEM-Kultur, Phasenkontrastaufnahme, OsO_4, Vergr. 1280×)

Weise überein. Man könnte versucht sein, hieraus zu schließen, daß das TEM dieselbe physiologische Wirkung auf den Zellkern ausübt wie eine Röntgenbestrahlung. Wir selbst neigen zu der Ansicht, daß dem Zellkern nur ganz bestimmte Reaktionsmöglichkeiten zur Verfügung stehen, daß sein Verhalten also aus diesem Grunde nicht reizspezifisch ist.

III. Die Wirkungsschwelle des TEM

Bei den bisher beschriebenen Beobachtungen waren, wie gesagt, sämtliche Leghornembryonen mit je 10 γ TEM behandelt worden. In einer weiteren Versuchsreihe ermittelten wir nun die kleinste wirksame Dosis des TEM. Zu diesem

Zweck injizierten wir in 26 Std lang bebrütete Eier je 1 γ, 0,5 γ, 0,25 γ und 0,1 γ TEM. Zur histologischen Untersuchung wurden die Eier dann noch weitere 24 Std bebrütet, so daß die entnommenen Hühnchen wiederum 50 Std alt waren. Eine andere Serie haben wir bis zum Schlüpfen im Brutschrank gelassen.

1. Histologische Befunde. Neuralrohrquerschnitte von 50 Std alten Embryonen, die mit 0,1 γ und 0,25 γ TEM behandelt worden waren, zeigten im Vergleich zu den entsprechenden Kontrollen noch keine Abweichungen.

Die ersten Veränderungen traten vielmehr erst bei 0,5 γ TEM auf, und zwar verringerte sich bei dieser Konzentration vor allem die Anzahl der mitotischen Teilungen. So fanden wir in 30 Neuralrohrquerschnitten 101 Mitosen, denen 191 Zellteilungen der Kontrollen gegenüberstanden (s. oben). Die Mitosenrate wird also schon bei dieser geringen Dosis nahezu auf die Hälfte herabgesetzt. Riesenkerne, Nekrosen oder Pyknosen traten jedoch nur vereinzelt auf.

Neuralrohrquerschnitte der mit 1 γ TEM behandelten Embryonen unterschieden sich histologisch nicht von den früher beschriebenen 10 γ-Tieren. Die mitotischen Teilungen waren in beiden Fällen nahezu vollkommen unterdrückt. Daraus resultierte die schon erwähnte Verkleinerung der Organanlagen gegenüber den Kontrollen. Auch hier bestimmten Riesenkerne, Pyknosen und Nekrosen das histologische Bild.

2. Das Schlüpfen der behandelten Hühnchen. Mit 10 γ TEM behandelte Hühnchen lebten im Höchstfalle bis zum 9. Bebrütungstage.

Auch eine Konzentration von 1 γ TEM pro Embryo wirkte noch letal. Von den neun behandelten Embryonen starben sieben Tiere im Laufe des 12.—15. Bebrütungstages ab. Die übrigen zwei Hühnchen entwickelten sich zwar bis zum Schlüpftermin normal, waren dann aber nicht in der Lage, das Ei zu verlassen.

Lebensfähige Kücken erhielten wir erst bei einer Konzentration von 0,5 γ TEM pro Embryo, doch waren auch diese Tiere geschwächt. Sie sahen zwar äußerlich munter aus und fraßen, konnten sich aber noch 4 Tage nach dem Schlüpfen nicht längere Zeit auf den Beinen halten.

Die mit 0,25 γ und 0,1 γ TEM behandelten Hühnchen schlüpften alle normal und waren genauso kräftig wie unbehandelte Tiere.

Die Schlüpfversuche bestätigen also die histologischen Befunde, wonach 0,5 γ TEM gerade ausreichen, um erste Veränderungen zu bewirken. Diese geringe Schädigung kann aber im Laufe der Embryonalentwicklung wieder so weit ausgeglichen werden, daß nur eine allgemeine Schwächung des Hühnchens zurückbleibt.

Zusammenfassung

Wie schon bekannt ist, wird durch die Einwirkung von TEM die Anzahl der mitotischen Teilungen herabgesetzt. Im Neuralrohr von Hühnerembryonen, die mit je 10 γ TEM behandelt worden waren, fanden wir 24 Std nach der Injektion nur noch 6,3% der normalen Mitosen. Die Kernanzahl war infolgedessen ebenfalls verringert und betrug nur noch 14% der Norm.

Die Unterdrückung der Mitosen durch TEM führt zu einer Verkleinerung der Organanlagen. Querschnitte durch Neuralrohre waren z.B. bei den Kontrollen etwa 3mal flächengrößer als bei den mit TEM behandelten Tieren. Die Differenzierung des Neuralrohres verlief aber auch hier normal.

Kennzeichnend für die TEM-Wirkung ist ferner die Bildung von Riesenkernen, wobei das Volumen sämtlicher Zellkerne gegenüber den Kontrollen um mehr

als das Doppelte zunimmt. Diese Riesenkernbildung ist sicher ebenfalls eine Folge der Mitosehemmung.

In Kulturen von TEM-Gewebe treten sehr viele Amitosen auf. Dabei entstanden vielfach aus einem Ausgangskern zwei nahezu gleich große Tochterkerne; in anderen Fällen schnürte der Kern eine oder mehrere Knospen ab, so daß schließlich Zellen mit einer Vielzahl von Kernen verschiedenster Größe auftraten, von denen manche später abstarben, während andere ganz normal aussahen. In dieser Hinsicht gleicht die Wirkung des TEM durchaus derjenigen von Röntgenbestrahlungen (Wendt 1959).

Die Wirkungsschwelle des TEM liegt bei 0,5 γ pro Leghornembryo. Bei dieser Dosis treten zwar noch keine sichtbaren Gewebeschädigungen auf, doch wird die mitotische Teilungsrate um fast die Hälfte herabgesetzt. Die primäre Wirkung des TEM besteht also in der Unterdrückung der Teilungsbereitschaft.

Bei einer Erhöhung der Dosis über 0,5 γ starben die Embryonen im Laufe der Embryonalentwicklung ab, kamen also nicht zum Schlüpfen.

Literatur

Bodenstein, D.: Effects of radio-mimetic substances on embryonic development with special reference to nitrogen mustards. J. cell. comp. Physiol. **43**, 179—205 (1954).

Cattanach, B. M.: Induction of translocation in mice by triethylene-melamine. Nature (Lond.) **180**, 1364—1365 (1957).

Gebelein, H., u. H.-J. Heite: Statistische Urteilsbildung. J. Springer 1951.

Jackson, H., and M. Bock: Effect of triethylenemelamine on the fertility of rats. Nature (Lond.) **175**, 1037—1038 (1955).

Jurand, A.: Action of triethanolmelamine (TEM) on early stages of chick embryos. J. Embryol. exp. Morph. **6**, 357—362 (1958).

Pedersen, K. J.: Morphogenetic activities during planaria regeneration as influenced by triethylene melamine. J. Embryol. exp. Morph. **6**, 308—334 (1958).

Rose, F. L., J. A. Hendry and A. L. Walpole: New cytotoxic agents with tumour-inhibitory activity. Nature (Lond.) **165**, 993—996 (1950).

Sauer, F. C.: Mitosis in the neural tube. J. comp. Neurol. **62**, 377—405 (1935).

Sentein, P.: Action de la 2,4,6-triethylene-imino-1,3,5-triazine (TEM) sur les mitoses de segmentation, les mitoses epithéliales et les mitoses épendymaires chez les Batraciens. Archives de Biol. **68**, 581—632 (1957).

Töndury, G.: Entwicklungsstörungen durch chemische Faktoren und Viren. Naturwissenschaften **42**, 312—319 (1955).

Truhaut, R., et G. Deysson: Action de la triethylene-melamine sur les plantules de Pisum sativum L.; essais de protection par la β-mercaptoethylamine. C. R. Acad. Sci. (Paris) **240**, 1123—1125 (1955).

Waddington, C. H.: A note on the effects of some cytotoxic substances on amphibian embryos. J. Embryol. exp. Morph. **6**, 363—364 (1958).

Wendt, E.: Lebendbeobachtungen an bestrahlten Interphasekernen. Z. Zellforsch. **49**, 677—689 (1959).

Dr. Rolf Danneel, Zoologisches Institut der Universität, Bonn a. Rh., Poppelsdorfer Schloß

Zeitschrift für Zellforschung 53, 339—393 (1961)

Aus dem Anatomischen Institut der Universität Marburg

HISTOTOPOGRAPHISCHE UND CYTOLOGISCHE STUDIEN AN DEN EMBRYONALHÜLLEN DER KATZE*

Von

G. Petry

Mit 45 Textabbildungen

(Eingegangen am 10. August 1960)

Inhalt

Seite

A. Einleitung 339
B. Material und Methodik 340
C. Befunde 341
I. Das Epithel des Amnions 341
II. Das Epithel der Allantois 350
III. Das Chorionepithel 359
IV. Das Bindegewebe des Allanto-Amnion und Allanto-Chorion 366
1. Die Anordnung des Fasergerüstes S. 366. — 2. Die Bindegewebszellen S. 369. — 3. Die Blutgefäße S. 380.
D. Diskussion 383
1. Amnion S. 383. — 2. Allantois S. 385. — 3. Chorion S. 387. — 4. Bindegewebe S. 388.
Zusammenfassung 390
Literatur 392

A. Einleitung

Im Anschluß an frühere Untersuchungen über die Embryonalhüllen des Menschen und der Ratte (Petry 1953, 1954; Petry und Damminger 1956; Petry und Zuleger 1958) sowie vergleichende Studien am Dottersack und der Allantois (Petry 1956 u. 1959) wurden die Embryonalhüllen der Katze als Beispiel für die Carnivoren untersucht. Die Wahl dieses Vertreters erfolgte mehr zufällig und nicht etwa aus der Überzeugung, daß diese Art in sämtlichen Einzelheiten mikroskopisch feststellbarer Besonderheiten als typisches Beispiel für alle Carnivoren gelte. Topographische und vereinzelte histologische Untersuchungen an Querschnittsbildern über diese Hüllen wurden bereits von E. C. Amoroso (1952), N. Bjorkman (1957), E. W. Dempsey u. G. B. Wislocki (1946 u. 1956), G. Heinricus (1914), A. Janssen (1933), L. Mandl (1905 u. 1906) und H. Strahl (1890) durchgeführt. Das Studium des feineren mikroskopischen Aufbaus der Embryonalanhänge ergibt innerhalb einzelner Species ebenso Besonderheiten, wie dies für den Bau der Placenta in jüngster Zeit (Starck 1959) hervorgehoben wurde. Wenn sich der grobe Schichtenbau, wie etwa beim Amnion (Arbeiten von Bautzmann u. Mitarb., sowie Petry u. Mitarb.) auch bei einem breiteren vergleichenden Material wiederholt und in gewisser Hinsicht von einem Bauprinzip dieser Hüllen gesprochen werden kann, so gibt es doch feinere cytologische Unterschiede, die dann sehr wesentlich werden können, wenn bei Prüfung von Stoffwechselvorgängen die funktionellen Zustandsbilder des morphologischen Substrates zum Maßstab genommen werden.

* Mit dankenswerter Unterstützung durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft.

Insofern wird man nach den neueren Kenntnissen über die Morphologie der Embryonalhüllen den tatsächlichen Verhältnissen nicht mehr ganz gerecht, wenn man beispielsweise den Bau des Amnions bei den Eutheria nur durch die Darstellung der Verhältnisse an einer Species und nur durch einfaches Aufzählen der einzelnen Schichten charakterisiert. Noch viel weniger wird man die Anlagerungsflächen von Amnion, Allantois und Chorion in dieser Weise darstellen dürfen.

Im Mittelpunkt der vorliegenden Arbeit sowie weiterer, bereits abgeschlossener Untersuchungen beim Kaninchen, Meerschweinchen, Schaf, Schwein und Hühnchen, steht die Allantois. Teilweise wurde hierüber schon berichtet (Petry 1959). Es besteht Anlaß in diesem Zusammenhang darauf hinzuweisen, daß es nicht das Ziel vorliegender Arbeit ist, entwicklungsgeschichtliche Besonderheiten der Allantoisfrühentwicklung zu beschreiben.

Die Allantois entwickelt sich bei einer verhältnismäßig großen Zahl von Species zu einer großen, z.T. die ganze Frucht umhüllenden und die ganze Uterushöhle auskleidenden Blase. Genauere Daten hierüber hat Starck (1959) zusammengestellt. Hieraus ergibt sich, daß bei sehr vielen Species die Embryonen durch zwei mit Flüssigkeit gefüllte Höhlen von der Uteruswand getrennt sind, der Amnion- und der Allantoishöhle. Da in den meisten Fällen die Allantois mit dem Amnion und dem Chorion verwächst und sie damit in vielen Fällen eine zentrale Stellung im Hüllsystem des Embryos einzunehmen scheint, wurde für die vorliegende Untersuchungsreihe die Frage aufgeworfen, ob die morphologischen Besonderheiten der Allantois über diese zentrale Stellung etwas aussagen können. Vor allem aber war das Ziel dieser Untersuchung, den Schichtenbau der Allantois, seine gewebliche Textur, sowie seine zellulären und interzellulären Bestandteile überhaupt erst von der Fläche her zu erschließen. Es ergaben sich hierbei Fragestellungen, die im Schnittpräparat — soweit bei der Allantois die Aufbauelemente überhaupt cytologisch angegangen wurden — bisher keine Berücksichtigung finden konnten. Darüber hinaus ist das Allanto-Amnion ein sehr reizvolles Objekt für cytologische Studien, sowohl am Epithel als auch am Bindegewebe. An Totalpräparaten und wegen der guten Durchsicht des Objektes kann man von der Fläche her den gesamten Zellbestand überblicken. Die hierbei gewonnenen cytologischen Befunde geben Anlaß, allgemeine cytologische Fragen anzuschneiden.

B. Material und Methodik

Untersucht wurden die Hüllen von Katzenembryonen im ersten, mittleren und letzten Drittel der Tragzeit. Die Hüllen wurden lebensfrisch durch Injektion in die Allantois- und Amnionhöhle fixiert. Während die das Amnion fast allseitig bedeckende Allantois besonders in den mittleren Entwicklungsstadien verhältnismäßig leicht vom Amnion abpräpariert werden konnte, war der am Chorion anliegende Allantoisteil nur sehr schwer zu isolieren. Die Befunde wurden daher in den meisten Fällen entweder am intakten Allanto-Amnion oder Allanto-Chorion erhoben.

Wie bei den vorangegangenen Untersuchungen an den Embryonalhüllen des Menschen und der Ratte wurden die Membranen auf Glasringe aufgespannt, fixiert und in diesem Zustand entweder sofort gefärbt oder in Paraffin eingebettet.

Bautzmann (1957, S. 590) meint, es sei durch Aufspannen der Häutchen noch nicht garantiert, daß der zu untersuchende Ausschnitt auf dem Objektträger nach der Färbung wirklich ideal plan liege. Dies gelänge selbst dann kaum, wenn man nach dem Eindecken das Deckglas vorübergehend leicht beschwere. Wir benutzen diese Aufspannmethode nunmehr seit Jahren und haben Tausende von Membranen verschiedenster Herkunft auf diese Weise aufgespannt und völlig plan auf den Objektträger bringen können. Selbst von zartesten

Membranen wie Frühstadien des Amnions und Chorions vom Hühnchen gelangen uns völlig plan aufgespannte Präparate. Die meisten Abbildungen der vorliegenden und früherer Arbeiten wurden von solchen Häutchenpräparaten angefertigt. Auch bei dickeren Objekten gelang es mit Ölimmersion cytologische Studien anzustellen. Bautzmann hat bei seiner Stellungnahme gegenüber der von uns angewandten Technik anscheinend übersehen, daß die von ihm in Zweifel gezogene Glaskalotte (Petry u. Damminger 1956, Abb. 1) nur zur ersten vorsichtigen Fixierung größerer menschlicher Eihautstücke benutzt wurde, von denen wir dann unter der Lupe dünne Häutchen anfertigten, die dann erst auf kleine konisch übereinanderpassende Glasringe aufgespannt wurden. Kleinere Objekte wurden selbstverständlich sofort auf diese Glasringe aufgespannt. Wir benutzten Ringe mit Durchmessern von 0,25—2 cm. Die zarten Membranen werden bei diesem Verfahren entweder frisch oder aus einer Fixierungsflüssigkeit nach Wahl über die kleinen Ringe gebracht. Der große Ring wird vorsichtig über den kleineren gelegt und unter sanftem Druck über den kleineren geschoben. Hierbei spannen sich die Häutchen trommelartig nach allen Seiten. In diesem Zustand verbleiben sie durch alle Färbungen bis zum Xylol, ohne daß man sie zu berühren braucht. Erst wenn sie durch die Entwässerung in der aufsteigenden Alkoholreihe und in Xylol fest geworden sind, schneiden wir sie von den Ringen heraus. Zum Eindecken werden die Objekte entweder in zwei Hälften geschnitten, so daß einmal die Oberseite und dann die Unterseite deckglasnahe sind oder wir verwenden überhaupt zwei Häutchen. Der Vorteil der Aufspannmethode liegt darin, daß jedes Häutchen an beiden Seiten und auch die Zwischenschichten immer gut angefärbt sind. Färbt man feine Membranen in Schälchen, wie dies Bautzmann für bestimmte Zwecke als vorteilhaft ansieht, dann kommt es beim Versuch, die Präparate glatt aufzuziehen gerade hier z.T. zu erheblichen Schrumpfungen und Zerrungen. Für wäßrige Farbflotten mag dies nicht so sehr der Fall sein wie für alkoholische oder solche, die stark eiweißfällende und somit das Häutchen an bestimmten Stellen härtende Reagentien enthalten.

Daß jedes derartige Verfahren auch einmal Versager hat, ist selbstverständlich. Ich bediente mich in der Zwischenzeit auch der Aufziehmethode von Bautzmann, jedoch muß ich abschließend zu diesem Punkte sagen, daß ich mit den Ringen meistens besser gefahren bin. Für ganz kleine Objekte, die auch auf die kleinsten Ringe nicht mehr aufzuspannen waren, war das direkte Aufziehen der Membranen natürlich die einzige Möglichkeit, die uns jedoch nicht immer voll befriedigte.

Fixierungen: Neutrales Formol, Carnoy, Gemische nach Rossman, Stieve, Flemming.

Färbungen und Reaktionen: Azan, Chromhämatoxylin-Phloxin nach Gomori, Berliner Blau-Reaktion, Eisenhämatoxylin nach Heidenhain und Weigert, Giemsa, van Gieson, Hämatoxylin-Eosin, Heldsches Molybdänhämatoxylin, Methylenblau, Methylgrün-Pyronin, Sudanschwarz B, Toluidinblau 4,8%ig, Neutralrot 1%ig, Versilberung nach Gomori, Glykogendarstellung nach Shimizu mit entsprechenden Kontrollen, Mitochondriendarstellung nach Hirsch und Bretschneider.

Ich bediente mich bei meinen Untersuchungen und Herstellung der Mikrophotogramme des Photomikroskops der Fa. Zeiss.

C. Befunde

I. Das Epithel des Amnions

Obwohl das Amnion in letzter Zeit häufig Gegenstand eingehender Untersuchungen war, ist es wegen einiger cytologischer Besonderheiten doch erforderlich, auf das Katzenamnion einzugehen. Es handelt sich hier nur um das *Epithel.* Das Bindegewebe zwischen Allantois und Amnion einerseits und Chorion andererseits wird im Anschluß besprochen.

Im Vergleich zu allen bisher untersuchten Amnien nimmt die Epithelzelle des Katzenamnions wegen ihrer Größe sowie des gehäuften Auftretens mehrkerniger Zellen anscheinend eine Sonderstellung ein. Die Größenunterschiede zwischen ihr und der nur durch eine dünne Bindegewebslage von ihr getrennten Allantoisepithelzelle ist teilweise überraschend. Abb. 1a und b zeigen beide Epithelzellen der gleichen Stelle eines Totalpräparates bei gleicher Vergrößerung.

Auf eine große Amnionzelle kommen hier durchschnittlich 10—20 Allantoiszellen. An einzelnen Stellen konnte ein Verhältnis sogar von 1:30 ausgezählt

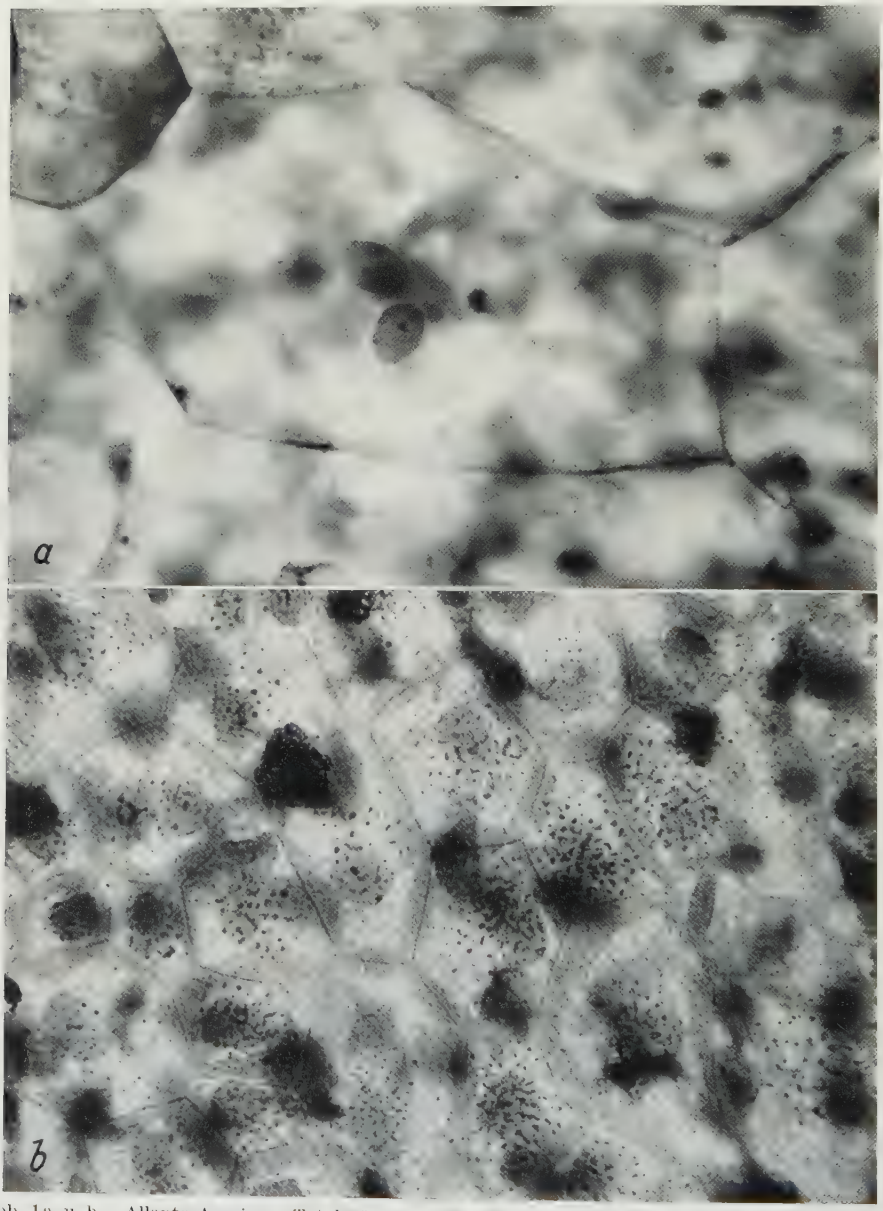


Abb. 1a u. b. Allanto-Amnion, Totalpräparat. Eisenhämatoxylin, Vergr. 560fach (nachvergr.) a Amnionepithel, zweikernig, b Allantoisepithel. Beide Aufnahmen bei verschiedenen Fokussierungen an der gleichen Stelle des Totalpräparates aufgenommen. Beachte die Größenunterschiede

werden. Selbst die kleinsten Amnionzellen waren noch etwa 3—5mal größer als die der Allantois. In ihrer äußeren Form stellen sich die Amnionzellen als 5- bis 6eckige geradlinig begrenzte Platten dar. Die Zellgrenzen sind schwer darzustellen. Die Ränder überschneiden sich (lichtmikroskopisch) nur geringfügig.

Grobe Verzahnungen und Stomata konnten nicht festgestellt werden. Glykogen ist im Amnionepithel kaum vorhanden. Die freie Oberfläche des Amnions ist lichtmikroskopisch glatt. Vergeblich habe ich in Serien aus dem Allanto-Amnion nach dem von SCHAFFER (1927) erwähnten Besatz von „ungemein zarten und langen Haaren" gesucht, die BROUEFF und EBERT (1864) schon beschrieben haben sollen und von MANDL (1905) mit der Absonderung der Amnionflüssigkeit in Zusammenhang gebracht wurden. Eine sehr starke Entwicklung dieser Fortsätze soll bei Tieren erreicht worden sein, denen beide Nieren entfernt worden waren (MANDL 1906). Während ich am Amnion diese Fortsätze nie gesehen habe, finde ich sie regelmäßig an der freien Oberfläche des Allantoisepithels, und zwar nicht nur bei der dem Amnion, sondern auch der dem Chorion anliegenden Allantois (s. S. 353). Es ist möglich, daß die erwähnten Autoren wegen der leicht sich lösenden und im letzten Drittel der Tragzeit häufig degenerierenden Amnionepithelien (s. unten) nur eine Epithelschicht, nämlich das Allantoisepithel mit seinen Fortsätzen gesehen und letztere dem Amnion zugeschrieben haben. Derartige Verwechslungen sind um so eher möglich, als das Amnion mit Ausnahme eines relativ kleinen Bezirkes an der Bauchseite des Embryo außen allseitig von der Allantois bedeckt wird, die Zwischenschicht sehr dünn und schließlich eine isolierte Darstellung des Amnions durch Präparation nur bei geeigneter Fixierung und sorgfältig aufgespanntem Allanto-Amnion möglich ist. Selbst bei intaktem Allanto-Amnion ist es sowohl an Querschnitten als auch an Totalpräparaten oft schwierig, das Amnionepithel zu erkennen. Es bedarf einiger Erfahrung, die Kerne des Amnionepithels sicher zu diagnostizieren, zumal, wenn die Zellgrenzen nicht dargestellt wurden. Im Querschnitt ist das Amnionepithel so dünn, daß der Unerfahrene es leicht mit lang ausgezogenen Fibrocyten verwechselt. Soweit es überhaupt am Ende der Tragzeit noch vorhanden ist, beträgt seine Höhe außerhalb der Kernbezirke kaum über 2—3 μ, in der Kernregion höchstens 4 μ. Diese Maße wurden an exakten Querschnitten von Ultradünnschnitten erhoben. Sie stehen in Widerspruch zu den Angaben BAUTZMANNs und SCHMIDTs (1960), die das Amnionepithel der Katze als kubisch bis platt beschreiben und eine elektronenoptische Abbildung (S. 579, Abb. 9) zeigen, aus der sich eine Epithelhöhe von etwa 9 μ errechnen läßt. Die Färbbarkeit des ungewöhnlich dünnen Epithels läßt sehr zu wünschen übrig. Die beste Darstellung gelang mit einer prolongierten Eisenhämatoxylinfärbung.

Das Amnionepithel der Katze ist am Ende der Tragzeit häufig nicht mehr nachzuweisen. An zahlreichen supravital gefärbten, ohne Berührung aufgespannten, in Serien quer und schräg geschnittenen Totalpräparaten des Allanto-Amnions wurden nur auf der Allantoisseite Epithel gesehen. Dieses gleicht in allen Einzelheiten dem Allantoisepithel des Allanto-Chorions. Anstelle des Amnionepithels wurden nur Bruchstücke der übermäßig großen Zellen auf der der Amnionhöhle zugekehrten Seite des Allanto-Amnions gefunden (Abb. 2). Nach Erscheinen der Arbeit von BAUTZMANN und SCHMIDT (1960) mußten wegen einiger unterschiedlicher Befunde neue Untersuchungen besonders im Hinblick auf das Amnionepithel angestellt werden, die bestätigten, daß bei jungen Stadien das Epithel noch intakt, bei älteren, etwa im letzten Drittel der Tragzeit gewonnenen Amnien, vielfach degeneriert oder überhaupt nur noch als Bruchstücke auszumachen war. Alle Totalpräparate des Allanto-Amnions dieses Entwicklungsstadiums, die einmal mit der Amnion- und dann mit der Allantoisseite nach oben

aufgespannt oder nach der Methode von Bautzmann direkt aufgezogen wurden, zeigten häufig nur ein Epithel, das eindeutig als Allantoisepithel anzusprechen war. Selbst bei mittleren Entwicklungsstadien ist die Darstellung des Amnionepithels schwierig. An vielen Totalpräparaten war es trotz sorgfältigster Behandlung lückenhaft. Abgeplatzte Epithelien konnten als Ganzes mit erhaltenen Kernen einwandfrei dargestellt werden. Anscheinend ist die Haftung des Epithels auf der bindegewebigen Grundlage nicht so gut wie bei den bisher beschriebenen Arten. Beim Hund sind die Verhältnisse ähnlich. Das subepitheliale Gitterfasergerüst ist im Vergleich zu den Gerüsten beim Menschen oder Huftieren und Nagern wesentlich geringer ausgebildet. Eine Basalmembran ist auch elektronen-

Abb. 2. Amnion aus Totalpräparat des Allanto-Amnion. Toluidinblau, Vergr. 350fach (nachvergr.). Bruchstücke zugrunde gegangener Amnionepithelien, keine intakten Epithelzellen

mikroskopisch nicht eindeutig oder nur als sehr dünne Lamelle nachweisbar. In seiner Tendenz, sich abzulösen kann das Amnionepithel der Carnivoren schon bei mittleren Entwicklungsstadien mit dem Endothel verglichen werden.

Die meisten Epithelzellen des Katzenamnions früher und mittlerer Entwicklungsstadien sind zweikernig (Abb. 1a u. 3). Selbst fünfkernige sind keine Seltenheit. Ein Fehler durch Nichtdarstellung etwaiger Zellgrenzen kann mit Sicherheit ausgeschlossen werden. Die Zellgrenzen wurden nicht durch Versilberung dargestellt, bei der es bekanntlich häufig zu unvollständiger Imprägnierung kommen kann. Damit entfällt auch die Verwechslungsmöglichkeit an der Basis gelegener lang ausgestreckter Gitterfasern mit Zellgrenzen. Bautzmann (1957) weist mit Recht darauf hin, daß man bei den hauchdünnen Epithel-Bindegewebsmembranen nicht immer in der Lage ist, Epithelzellkerne von denen des Bindegewebes zu unterscheiden. Bei entsprechend guter Optik und plan aufgespannten dünnsten Häutchen lassen sich jedoch die einzelnen Lagen einwandfrei diagnostizieren. Eine Fehlerquelle, auf die Bautzmann (1957a und b) hingewiesen hat, muß jedoch berücksichtigt werden: Es ist möglich, daß die Kerne der sich eng an die Unterseite des Amnionepithels anschmiegenden und hauchdünn ausgebreiteten Fibrocyten von unten sich so in das Plasma der Epithelzellen eindrücken, daß das Bild einer Mehrkernigkeit entsteht. Bei reinen Kerndarstellungen könnten

u.U. die Fibrocyten als zusätzliche Epithelkerne angesprochen werden. Gleichzeitige Plasmafärbungen (z.B. Methylenblau) geben in den meisten Fällen deutliche Färbungsunterschiede, da sich das Fibrocytenplasma in der Regel intensiver anfärbt.

Diese unterschiedliche Anfärbbarkeit geht mit einer verschieden starken Granulierung einher. Die sich dunkler anfärbenden Epithelzellen (z.B. in Abb. 3) sind besonders im Zentrum stärker granuliert. Schatten im Untergrund der Abbildungen werden durch die unter dem Epithel liegenden Gewebselemente

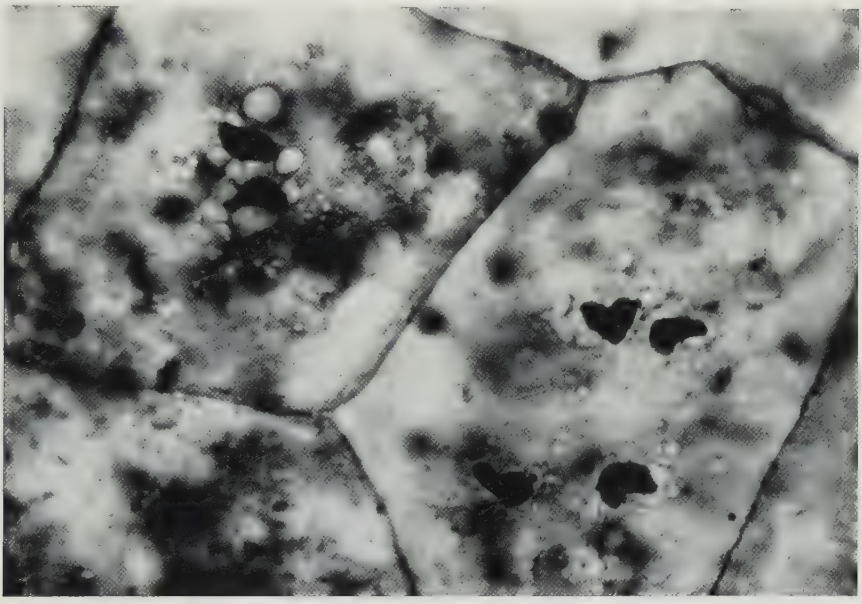


Abb. 3. Mehrkernige Amnionepithelien mit Verformung der Kerne und Vakuolenbildungen, Totalpräparat, Allanto-Amnion, Eisenhämatoxylin. Vergr. 560fach (nachvergr.). Vergleiche Abb. 1a und 4

hervorgerufen (Totalpräparat!), was demnach nichts mit einer intensiveren Färbung des einen oder anderen Zellteils zu tun hat. Totale Auflösungen von Amnionzellen und Umwandlungen mehrerer Zellen in eine einzige Riesenvakuole wie beim menschlichen Amnion und bei der Ratte (Petry 1956, 1959) sind bei der Katze sehr selten. Große, zentral im Mittelteil der Zelle liegende Vakuolen sind häufiger. Die Kerne lagern sich unter schalenartiger Verformung der Vakuolenwand an (Abb. 4). In der Vakuolenmitte finden sich gelegentlich Kernreste.

Die Vielkernigkeit scheint nicht von der Größe der Zelle abhängig zu sein. Aus welchen Gründen es nicht zur Zellteilung kommt, bleibt offen. Eine scheinbare Verschiebung der Kernplasmarelation zugunsten des Cytoplasmas ist u.U. dadurch möglich, daß die Amnionepithelzelle der Katze ungemein dünn ist und ihre Flächenausbreitung somit im Vergleich zu höheren Zellen entsprechend zunimmt.

Die Formen der Epithelkerne zeigen andere Bilder, als wir es sonst beim Amnion gewohnt sind (Abb. 1a, 3 und 4). Ihr häufiger Formwechsel, verbunden mit einer entsprechenden Vakuolisierung des Cytoplasmas innerhalb kleinerer Zellareale ist besonders auffallend. Neben soliden rund-ovalen (Abb. 1a) treten

Kerne auf, die eine eigentümlich geschlängelte, bizarre Verformung angenommen haben, wobei es auch häufig zu kleinen und größeren Kernabschnürungen kommt (Abb. 3). Viele Kerne besitzen größere und kleinere Eindellungen. Eine zunehmende perinucleare Vakuolisation geht mit einer Variabilität der Kernform einher (Abb. 3). Die einzelnen Einbuchtungen der Kerne sind häufig von Vakuolen belegt. Bei größeren, z.T. gekammerten Vakuolen (Abb. 3 und 4) legt sich der Kern schalen- oder kappenartig um diese Gebilde.

Bei der Beurteilung der vorliegenden Abbildungen muß berücksichtigt werden, daß es sich um Totalpräparate handelt, bei denen die vorwiegend flach ausgebreiteten und im Querschnitt kaum auszumachenden Zellen und Kerne in ihrer tatsächlichen Form dargestellt sind.

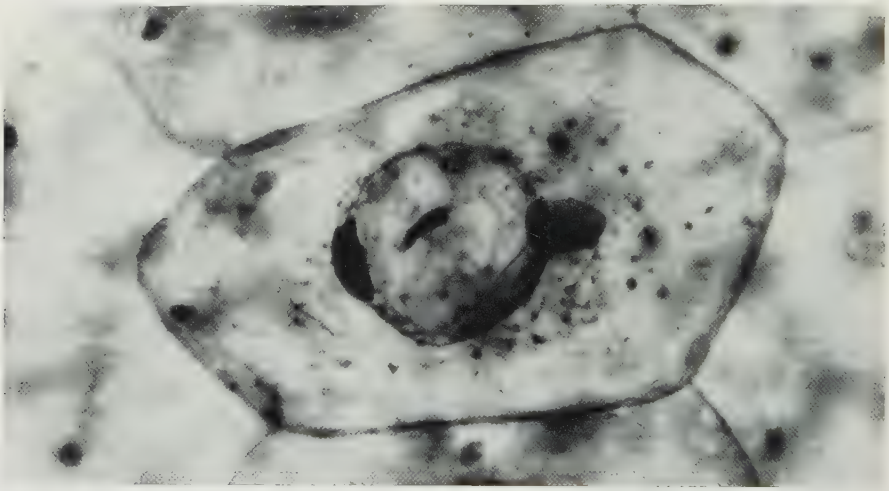


Abb. 4. Amnionepithelzelle mit zentraler Vakuole. Zwei Kerne und mehrere Nebenkerne. Totalpräparat. Allanto-Amnion, Eisenhämatoxylin. Vergr. 560fach (nachvergr.), s. Text

Kernvakuolen verschiedener Größen treten in allen Entwicklungsstadien auf, allerdings nicht so häufig wie beim menschlichen Amnionepithel (Petry 1956). Größer werdende Vakuolen drängen sich zur Kernmembran vor. Die chromosomale Substanz verdichtet sich hierbei am Vakuolenrand. Zwischen dem Auftreten von Kern- und Perinuclearvakuolen im Plasma scheint es unmittelbare Zusammenhänge zu geben.

Das Vorkommen *amitotischer Kernteilungen* wirft erneut die Frage des Kernteilungsmodus der Amnionepithelzelle auf. Beim menschlichen Amnion (Petry 1956) habe ich Zweifel darüber geäußert, daß das Epithel sich durch Mitosen vermehre, da ich bei den seinerzeit vorliegenden Präparaten praktisch keine Mitosen entdecken konnte. Bautzmann hat dagegen mit Recht Stellung genommen und an seinen Präparaten, besonders von Frühembryonalstadien — meinen Beobachtungen lagen Endstadien und geborene Eihäute zugrunde — einwandfrei Mitosen nachgewiesen. Ich habe seinerzeit den Verdacht geäußert, daß direkte Kernteilungen vorherrschen, was Bautzmann (1957) an seinen frühen Stadien nicht feststellen konnte. Damit wurde die Möglichkeit einer amitotischen Kernteilung bei mehr- und vielzelligen Amnionzellen überhaupt zur Diskussion gestellt. In einer Fußnote berichtet Bautzmann (1957, S. 592) über eine persönliche Information durch Lettré, der „sich nicht besinnen könne, jemals eine unbezweifelbare

Amitose beobachtet zu haben". Es wurde seitdem bei allen untersuchten Arten (Chalcides, Hühnchen, Schwein, Schaf, Ratte, Kaninchen, Katze, Hund) sorgfältig auf Kernteilungen geachtet. Dabei mußte festgestellt werden, daß das Vorkommen von indirekten Zellteilungen bei den einzelnen Embryonen, selbst frühen, noch im Wachstum befindlichen Stadien, sehr unterschiedlich war und daß bei dem einen Präparat oder auch den gesamten Eihüllen des Embryos fast gar keine, beim anderen jedoch in jedem Gesichtsfeld zahlreiche Mitosen nebeneinander vorlagen. Ich möchte annehmen, daß die Teilungsbereitschaft in derartigen Geweben einem Rhythmus unterliegt und daß nicht zu jedem Zeitpunkt Teilungen ablaufen. In welcher Form dieser Rhythmus abläuft, kann noch nicht gesagt werden. Auch bei menschlichen Nachgeburten waren diese Unterschiede auffällig. Dazu kommt noch, daß bei länger dauernden Geburten und besonders dann, wenn die Nachgeburt ausgestoßen und das Untersuchungsgut nicht sofort fixiert wurden, höchstwahrscheinlich die gerade in Gang befindlichen Teilungen noch ablaufen, bevor die Fixierung zur Wirkung kommt oder bei solchen Geweben überhaupt keine Teilungen mehr in Gang gesetzt werden.

Nach den grundsätzlichen Bedenken Bautzmanns (1957) muß zur Frage amitotischer Teilungen im Amnion erneut Stellung genommen werden. Neben Mitosen sind in den Amnionepithelzellen Kerndurchschnürungen in den verschiedensten Stadien nachzuweisen (Abb. 5b—d). Ebenso deutet das Vorkommen von Nebenkernen (Kernzwerge), Kernabschnürungen und von Kernresten (Abb. 5b, e, f) auf amitotische Vorgänge hin (O. Bucher 1958, 1959; Feyrter 1957; Geitler 1953; Lipp 1952).

Sinapius (1958) hat Amitosen als die weitaus häufigste Teilungsform des Venenendothels beschrieben. Er führt die Entstehung mehrkerniger Epithelzellen auf einfache oder auf mehrfache Durchschnürung des Kernmaterials zurück. Sinapius beschreibt dabei auch die verschiedensten Besonderheiten der Kerne, die er als Beweise für eine sich vorbereitende oder in Gang befindliche direkte Zellteilung ansieht. Einbuchtungen und Krümmungen sowie Lappungen der Kerne werden als *mögliche* oder *vermutliche* Vorstadien direkter Teilungen angesehen. Einschnürungen mit deutlicher Abgrenzung eventueller Tochterkerne sind *wahrscheinliche* Stadien direkter Kernteilungen. Durchschnürungen, die dicht vor dem Abschluß stehen, werden als *sichere* Zeichen im Endstadium direkter Teilungen angesprochen.

Am Amnionepithel der Katze herrschen besonders im mittleren Drittel der Tragzeit zweikernige Zellen vor. Echte mitotische Teilungen mit Ausbildungen von Kernspindeln, Verlust der Kernmembran und den typischen Phasen habe ich nur vereinzelt gesehen. Dagegen wurden häufig endomitotische Vorgänge sowohl in den einkernigen als auch in den doppelkernigen Zellen beobachtet. Die von Geitler (1953) für die Diagnose einer Endomitose zu stellenden Forderungen waren erfüllt.

In den Abb. 5b—d sind Mikrophotogramme einiger typischer Amnionepithelkerne zusammengestellt, die sich in amitotischer Teilung befinden oder deren Teilung nahezu als abgeschlossen betrachtet werden kann. Alle Kerne sind bei gleicher Vergrößerung aufgenommen und alle stammen aus Totalpräparaten. Da die Fokussierung so eingestellt wurde, daß nach Möglichkeit die Kernform als Ganzes zu erkennen war, mußten einige Unschärfen an einzelnen Kernteilen in Kauf genommen werden. Die Schatten im Untergrund der Abbildungen rühren von den subepithelialen Bindegewebskernen her. Der erste Kern (Abb. 5a) ist an mehreren Stellen zipfelig ausgezogen. In den beiden Eindellungen am

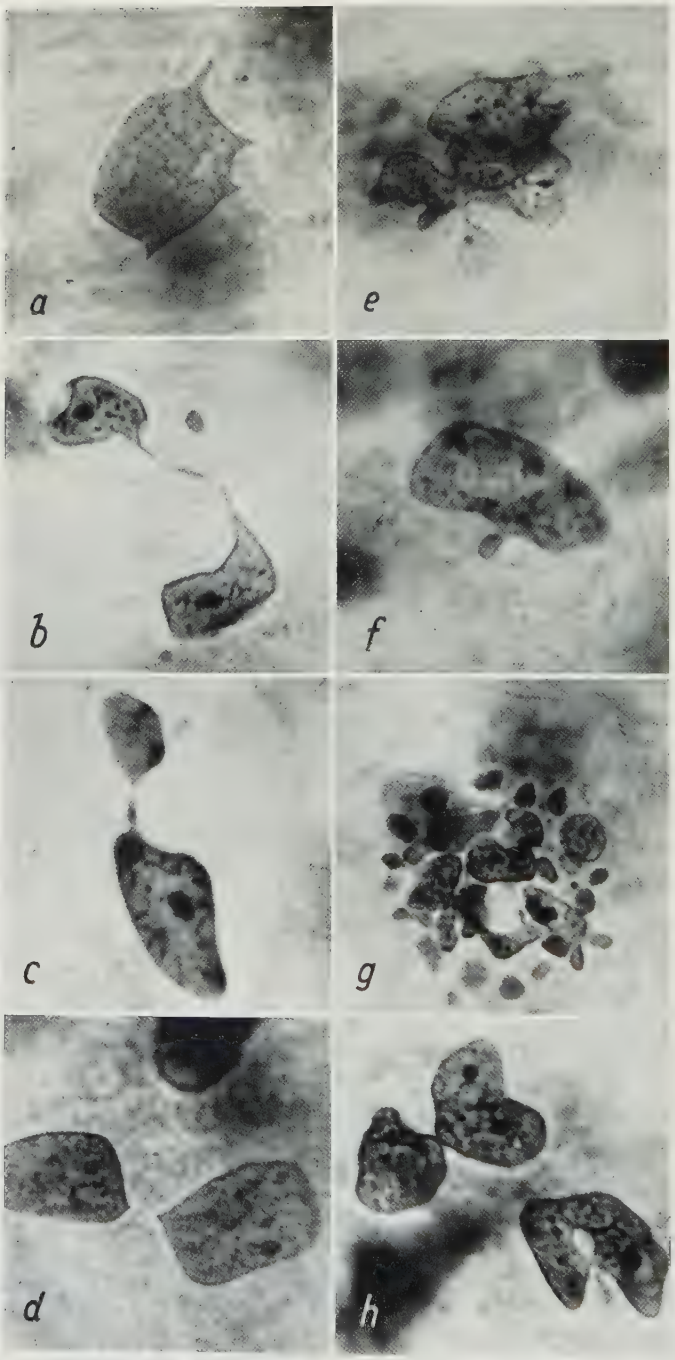


Abb. 5a—h. Kerne des Amnionepithels. Aus Totalpräparat. Chromhämatoxylin-Phloxin. Vergr. 1400fach (nachvergr.). Amitotische Kernteilungen (b, c, d), Kernabschnürungen (e, f), Kernverästelungen (e), Kernsegmentierungen (g), Lochkern (h). Näheres s. Text

rechten oberen Rand lagen Vakuolen, die nur bei Phasenkontrastbetrachtung sichtbar wurden. Selbstverständlich gibt es auch flache, rundlich-ovale Kerne, wie sie in Abb. 1a als Doppelkerne in der Zelle zu sehen sind. Abb. 5b—d zeigen direkte Kerndurchschnürungen. Es bestehen nur noch schmale Plasmaverbindungen, die teilweise gerade noch sichtbar zu machen waren. Beide Kernhälften besitzen Nucleoli und ihr Chromatingerüst ist praktisch gleich dicht. Auffallend war, daß die Hälften gelegentlich nicht gleich groß waren. Vergleichen wir aber die Übersicht in Abb. 1a und 3, so ist zu vermuten, daß solche Ungleichheiten kurz nach der Teilung wieder ausgeglichen werden. Die mehrkernigen Epithelzellen letztgenannter Abbildungen sind trotz der Verformungen in Abb. 3 praktisch gleich groß. Ohne weiteres ersichtlich ist dies in Abb. 1a.

Es wäre schließlich noch zu erwägen, ob die Kernpolymorphie auch hier als Ausdruck einer altersabhängigen Erscheinung gewertet werden kann (Sinapius 1958). — Eine echte Polymorphie, soweit das bei dem vorliegenden Untersuchungsmaterial beurteilt werden kann, wird oft durch Verdrängungserscheinungen seitens der zahlreichen perinuclearen Vakuolen vorgetäuscht. Bei gehäuftem Auftreten von Vakuolen im Zentrum einer Zelle nehmen die plastischen Kerne die Zwischenräume zwischen den einzelnen Vakuolen ein, ähnlich wie sich Bindegewebszellen zwischen den Fibrillenbündeln kollagener Sehnen zu „Flügelzellen" verformen. Je dünner eine Zelle in der Fläche ist, um so leichter treten anscheinend solche Verformungen auf. In vereinzelten Fällen wurden auch Lochkerne (Abb. 5h) oder verästelte Kerne (5e) und in einem Falle eine totale Kernfragmentation (5g) in etwa 30 Fragmente verschiedenster Größen beobachtet.

Kernknospungen führen über Kernabschnürungen zu Nebenkernen verschiedener Größen. Bei den größeren ist es schwer zu entscheiden, ob es sich hierbei schon um direkte Durchschnürungen etwa gleichwertiger Kernelemente handelt, die bereits eine äquale amitotische Teilung dokumentieren.

In den Abb. 5c und b erkennt man neben den größeren Kernen kleine Kernteile. Ihr Färbungscharakter entspricht bei allen Färbungen dem größerer Kerne. In Abb. 5e ist auch ein deutlicher Nucleolus zu erkennen. Solche Nebenkerne treten oft zu mehreren in einer Zelle auf. Es muß zur Diskussion gestellt werden, ob die inäqualen Teilungen, wie sie in Abb. 5c, e und g dargestellt sind, zunächst zu Nebenkernen führen, die dann an Volumen zunehmen, bis sie die Größe normaler Kerne erreicht haben. Wassermann (1929) hat hierauf schon hingewiesen. Auf diese Weise könnten z. B. die in Abb. 3 erscheinenden vier gleich großen unregelmäßig geformten Kerne entstanden sein. Darüber hinaus existieren aber noch zahlreiche kleinere Nebenkerne, die (Abb. 5f und 3) sich von größeren Kernen abschnüren. Manche Zellen waren überschwemmt von kleinen Elementen mit gleicher Färbungsintensität wie normale Kerne.

Im Gang befindliche Zelldurchschnürungen im Nachgang zu amitotischen Kernteilungen wurden beim vorliegenden Material nicht gesehen, was jedoch nicht besagen soll, daß sie nicht vorkommen. Desgleichen wird eine mitotische Teilung des Amnionepithels bei der Katze ebenso möglich sein. Es muß auch daran gedacht werden, daß das Auftreten mehrkerniger Zellen mit Nebenkernen der Ausdruck einer beginnenden Degeneration des Epithels ist. Die Möglichkeit zerstörter Mitosen ist ebenfalls zu erwägen (Feyrter 1957).

II. Das Epithel der Allantois

Die vorliegenden Untersuchungen am Allantoisepithel beziehen sich auf das gleiche Material wie beim Amnion. Die Totalpräparate ermöglichen einen direkten Vergleich der Allantoisepithelzelle mit denen des dicht anliegenden Amnions oder Chorions. Hinsichtlich der Flächenausdehnung steht das Allantoisepithel in der

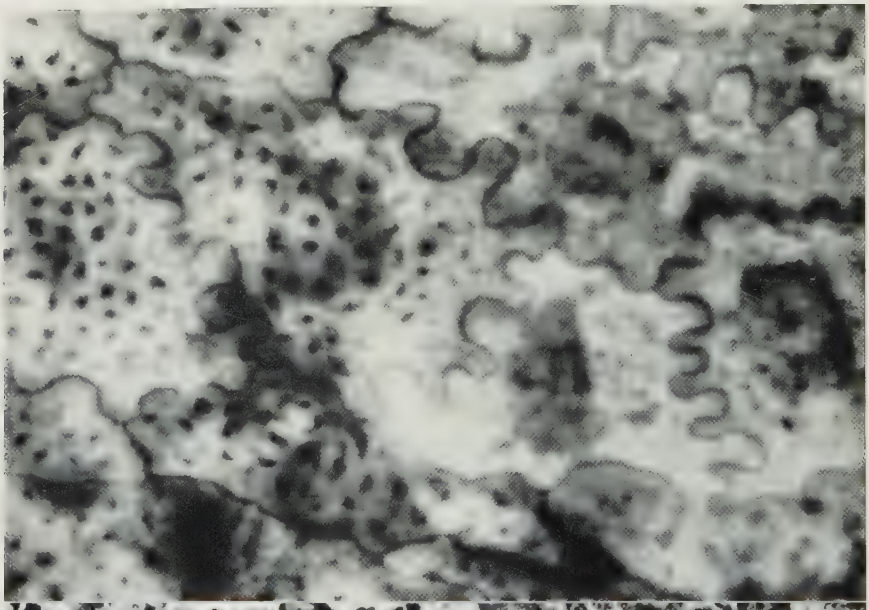


Abb. 6

Abb. 7

Abb. 6. Stark gezähnelte Grenzen des Allantoisepithels. Kleine punktförmige Sekretfortsätze. Totalpräparat, Heldsches Molybdänhämatoxylin. Vergr. 1400fach (nachvergr.)

Abb. 7. Glykogen (schwarz) im Allantoisepithel. Flachschnitt. Glykogendarstellung etwa 300fach (nachvergr., Grünfilter). Siehe Text

Mitte. In Abb. 1a und b wurden Allantois und Amnion gegenübergestellt. Die Form des Allantoisepithels ist im Querschnitt vorwiegend flach, gelegentlich flach bis kubisch, jedoch immer höher als das sich flach ausbreitende, sehr dünne Amnion. Die Zentralpartien der Zellen werden durch die im Querschnitt rundlichen Kerne etwas vorgewölbt, so daß man bei Aufsichtbetrachtung zuerst die flachen Vorwölbungen zu Gesicht bekommt. Bei etwas tieferer Fokussierung tauchen dann die Zellgrenzen auf. Sie werden durch ein lückenloses Schlußleistennetz abgeschlossen. Irritierend war zunächst die verschiedene Form der Grenzen, die einmal geradlinig (Abb. 1b), dann wieder stark gezähnelt erschienen (Abb. 6). Dazu kommt noch, daß an den tieferen Partien sich die Randzonen benachbarter Zellen überlappen, die sehr variable, z.T. bizarre Grenzen besitzen. Das Auftreten zweier Zelltypen, von denen der eine geradlinige, der andere stark gezähnelte Grenzen besitzt, dürfte wohl kaum Fixierungs- oder Spannungseffekten zuzuschreiben sein, da beide bei gleichen technischen Voraussetzungen im gleichen Präparat nebeneinander vorkommen. Ich möchte dieses Phänomen mehr dem verschiedenen Quellungszustand, besonders der apikalen Zellteile selbst zuschreiben. Niedrigere Zellen besitzen meist gezähnelte, höhere dagegen mehr geradlinige Grenzen. Beide unterlappen sich in ihren basalen Abschnitten. Im ersteren Falle erscheinen die sich übereinanderschiebenden Zellteile meist größer, so daß sich eine Fläche der einen Zelle sehr weit unter Teile der Nachbarzelle schieben kann. Bei den etwas höheren, anscheinend auf Grund besonderer funktioneller Bedingungen im apikalen Teil aufgequollenen Zellen, werden die nur in diesen apikalen Bereichen oberhalb der Kernebene sichtbaren Zellgrenzen geradlinig. Die Zellen werden dann 5—6kantig, so wie wir dies von den meisten Epithelien kennen.

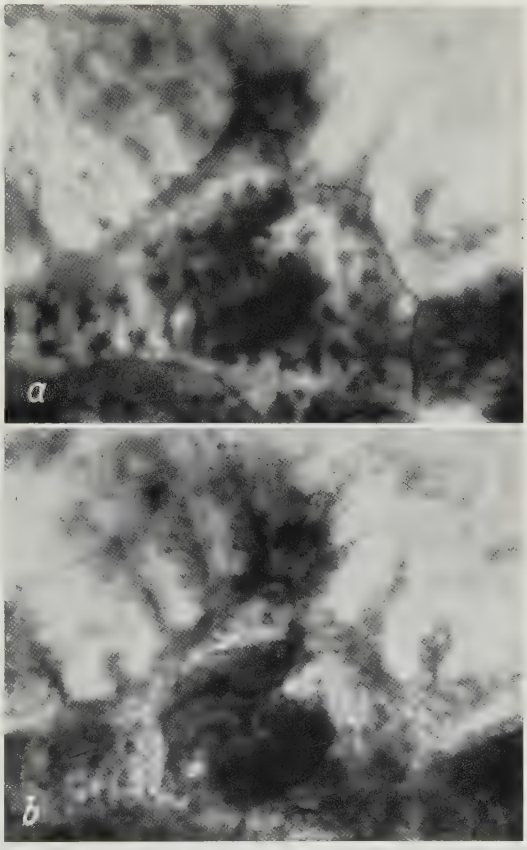


Abb. 8a u. b. Aufsicht auf Allantoisepithel bei verschiedener Fokussierung. a Einstellung auf die Zellgrenze; Sekretfortsätze erscheinen als dunkle unregelmäßig geformte Punkte. b Fokussierung auf die basalen stark gezähnelten Plasmafortsätze. Totalpräparat, Eisenhämatoxylin, Vergr. 1400fach (nachvergr.)

In der Aufsicht werden diese gelappten Randpartien durchprojiziert, so daß man neben den oberflächlichen Grenzen dunkler gefärbte, breitere und gezähnelte Randpartien erkennt (Abb. 8a u. b, 1b).

In einer Mitteilung über das Allantoisepithel verschiedener Species (Petry 1959) habe ich mich von diesem Phänomen teilweise insofern täuschen lassen, als ich nur von Plasmaverdichtungen in den Randzonen der Allantoiszellen sprach. Es gibt zwar Verdichtungen dieser Randpartien, aber die dunklere Färbung ist im wesentlichen auf die sich überschiebenden und gelappten unregelmäßigen unteren Zellpartien zurückzuführen. Wie sehr eine einseitige Betrachtung täuschen kann, demonstriert auch Abb. 7 aus einem Flachschnitt durch die Basis des Allantoisepithels, in dem Glykogen dargestellt wurde. Auf Grund dieses Bildes würde man eindeutig die Zellform als eine verzahnte unregelmäßige ansprechen. Indessen handelt es sich vorwiegend nur um die basalen Abschnitte. Die hellen Linien zwischen den Zellen täuschen weite Zellgrenzen insofern vor, als die Randpartien der basalen Zellabschnitte glykogenarm sind.

Die Dynamik des Allantoisepithels. Wenn schon wegen der außerordentlich variablen oberflächlichen Zellformen eine gewisse Dynamik anzunehmen ist, dann gilt dies in verstärktem Maße von der *Epithelbasis*. Der historisch starre Formbegriff des Deckepithels hat hier keine Gültigkeit mehr. An der Zellbasis herrscht ein sicher von der Funktion abhängiger Formwechsel. Plasmafortsätze in den variabelsten Formen (Abb. 8a und b) schieben sich unter die Nachbarzellen. Feinste filigranartige Säume dieser Fortsätze, vorwiegend in der Fläche ausgerichtet, aber auch nach oben und unten zur Ausbreitungsebene orientiert, ergeben je nach Bedarf eine erhebliche Oberflächenvergrößerung. Ein derartiges Verhalten hebt das Allantoisepithel der Katze über die einfache Form eines Deckepithels hinaus. Das unterschiedliche Verhalten oberflächlicher und basaler Epithelanteile findet nur eine Parallele in den Linzbachschen Befunden am Endothel (Linzbach 1952). Der Formreichtum des basalen Plasmas und die Tatsache, daß eine kontinuierliche, aus Interzellularsubstanz bestehende dicke *lichtmikroskopisch* sichtbare Basalmembran bei der Allantois fehlt, werfen weitere Fragenkomplexe auf. Einmal muß die Fixierung eines solchen „Deckepithels" eine andere sein. Es müßte gefordert werden, daß die feinen Filamente des Gitterfasergerüstes mit den Plasmafortsätzen in irgendeiner Form in Verbindung treten. Ob die im Lichtmikroskop gerade noch sichtbaren Protoplasmafüßchen der oft lappenartigen Fortsätze diese Fasern umgeben oder ob umgekehrt letztere die Fortsätze umspinnen, müßte ebenfalls noch elektronenmikroskopisch geklärt werden. Der zweite Fragenkomplex bezieht sich auf die funktionelle Bedeutung der morphologischen Befunde an derartigen Epithelien, bei denen die Epithel-Bindegewebsgrenze praktisch „offen" ist. Es wäre zu prüfen, ob die geringere Ausbildung der üblichen Basalmembran ein Zeichen dafür ist, daß zwischen Bindegewebe und Epithel ein besonders lebhafter Stoffaustausch vorliegt. Wenn hier von einer „offenen" Grenze gesprochen wird, so gilt dies nur im lichtmikroskopischen Sinne. Elektronenmikroskopische Untersuchungen über das Allantoisepithel ergeben vorläufig feine, außerordentlich stark verzahnte Zellgrenzen mit feinsten Grenzmembranen und zahlreichen Kontaktflächen, die breiter sind als diejenigen des Amnionepithels.

Auffallend ist, daß das Allantoisepithel und das darunter sich ausbreitende Fibrocytennetz im Gegensatz zum Chorion oder Amnion stark *Glykogen* speichern (Abb. 7).

Auch bei der Allantois fällt die unterschiedliche Färbbarkeit des Epithels auf. Einzelne Zellen färben sich kaum an. Sie können bei schwachen Vergrößerungen

mit Stomata verwechselt werden. Sie enthalten jedoch Kerne. Ob die hellen und dunkleren Zellen verschiedene Funktionsstadien darstellen, ist unbekannt. Auffallend war nur, daß in den helleren Zellen weniger Sekretfäden entsprangen (s. unten). Häufig sind gerade diese hellen Zellen doppelkernig.

Der Kern der Allantoisepithelzelle ist durchweg kleiner, jedoch regelmäßiger als der des Amnions. Es überwiegt die rund-ovale Form, jedoch trifft man gelegentlich auch zipfelig ausgezogene oder mehrfach eingedellte Kerne, in denen Vakuolen liegen. Ab und zu erscheinen sie gekantet oder auch einmal etwas in die Länge gezogen. Das Chromatingerüst ist fein verteilt. Auffällig klar und groß sind die sich intensiv anfärbenden Nucleoli, von denen es durchschnittlich 1—2 gibt. Die Zellen sind vorwiegend einkernig, vereinzelt kommen allerdings doppelkernige vor, die dann etwas kleiner sind. Das Allanotisepithel vermehrt sich mitotisch. Der Nachweis von Mitosen ist auch hier wieder sehr unterschiedlich. Sichere Zeichen von Amitosen können nicht festgestellt werden. Die Trennung der Allantoiskerne von denen der unmittelbar unter dem Epithel sich ausbreitenden Fibrocyten fällt schon wegen der dickeren Querschnitte der Allantoisepithelien etwas leichter als beim Amnion. Die Bindegewebskerne sind meist kleiner.

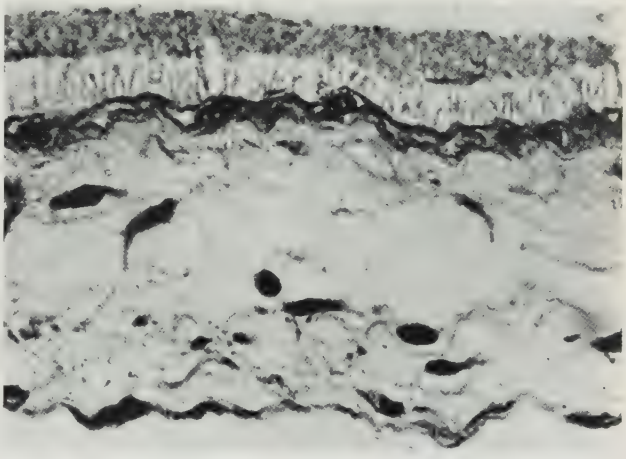


Abb. 9. Cilienähnlicher Saum von Sekretfortsätzen, darüber Schleimauflagerungen (vgl. Abb. 11). Allanto-Amnion, Querschnitt, HE, Vergr. 1400fach (nachvergr.)

Allantoisoberfläche. Bei Aufsichtbetrachtung mit mittleren Vergrößerungen zeigen sich in allen Allantoisteilen eigentümliche, intensiv angefärbte Tüpfelungen (Abb. 1b, 6, 8) auf der Epitheloberfläche. Es handelt sich um Fortsätze, die im apikalen Plasma ihren Ursprung nehmen und in Dichtigkeit, Form und Größe innerhalb der Allantoisblase sehr unterschiedlich sind. In den hellen Zellen sind sie nur schwach tingiert und stehen weiter auseinander. Die übrigen Zellen sind dicht mit diesen Fortsätzen übersät. Das Querschnittsbild durch das periphere Allanto-Amnion zeigt einen Saum dicht stehender, in das Allantoislumen hineinragender „Cilien" (Abb. 9). Auf diesem Saum befindet sich häufig ein Belag schleimähnlicher Substanz. Auf Grund der Formverschiedenheit, des färberischen Verhaltens, besonders wegen der stark positiven PAS-Reaktion, sowie der Art und Weise ihrer Entstehung sind die beobachteten Gebilde als *Sekretfäden* anzusprechen. Daneben kommt Sekret auch in Form von Kugeln vor (Abb. 10a). Zuweilen fließen mehrere kleinere Sekretkugeln zu großen zusammen oder sie bilden verschieden große keulenartige Formen (Abb. 10b). Die Sekretfäden selbst zeigen wechselnde Formen. Die unterschiedlichen Längen können als verschiedene Sekretionsstadien gedeutet werden. Kurze und lange Fäden wechseln innerhalb

einer Zelle (Abb. 11). Auffallend sind besonders lange, über mehrere Zellen hinweg verfolgbare Fäden. Sie enthalten an ihren Endstrecken vakuolenartige Blasen (Abb. 10c), deren Inhalt sich kaum anfärbt. Häufig vereinigen

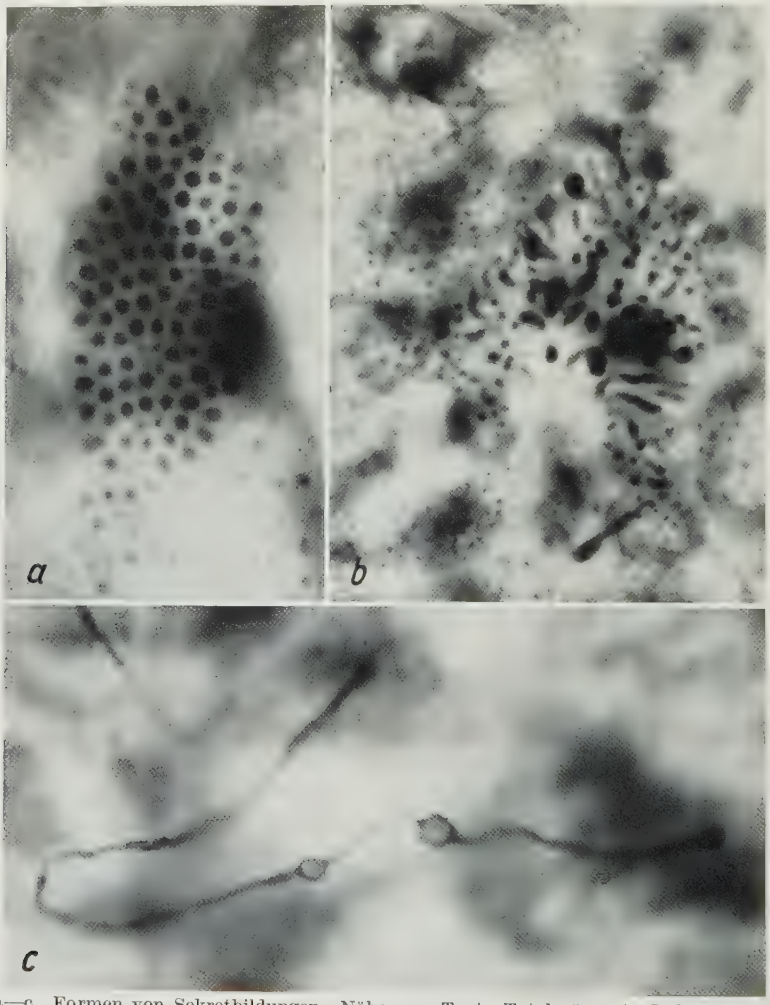


Abb. 10a—c. Formen von Sekretbildungen. Näheres s. Text. Totalpräparat. Heldsches Molybdänhämatoxylin. a 1400fach (nachvergr.); b 560fach (nachvergr.); c Ausläufer eines langen Sekretfadens mit vakuoligen Auftreibungen, 1400fach (nachvergr.)

sich mehrere lange Sekretfäden zu einem einzigen Strang. Ihre Enden teilen sich in feinste, weniger stark anfärbbare Ausläufer, als ob sie sich auflösen würden.

Besonders stark ist die Ausbildung dieser merkwürdigen Gebilde über dem die Placenta zonaria überziehenden Allantoisanteil. Hier werden auch die Epithelzellen höher. Sie nehmen in der Nachbarschaft der darunter liegenden Blutgefäße oft zylindrische Formen an und sind mit zahllosen, häufig über hundert solcher Sekretfäden besetzt (Abb. 12). Sie sehen wie behaart aus. Beim Eindecken solcher Totalpräparate biegen sich die Zellen parallel zur Oberfläche

Abb. 11

Abb. 12

Abb. 11. Stärkerer Sekretfadenbesatz eines Allantoisepithels. Totalpräparat. Allanto-Amnion, Methylenblau, 560fach (nachvergr.)

Abb. 12. Zapfenförmige Allantoiszellen mit dichtem Besatz feiner Sekretfäden. Rechts neben der mittelständigen großen Zelle ein langer, sich verzweigender Sekretfaden. Aufnahme stammt vom Rande eines über der Placenta gewonnenen Häutchenpräparates (s. Text). Methylenblau, 560fach (nachvergr.)

um. Die Sekretfäden selbst verzweigen sich wie Korallenstöcke (Abb. 13). In Sekretionsruhe befindliche Allantoiszellen enthalten unmittelbar unter der

Abb. 13

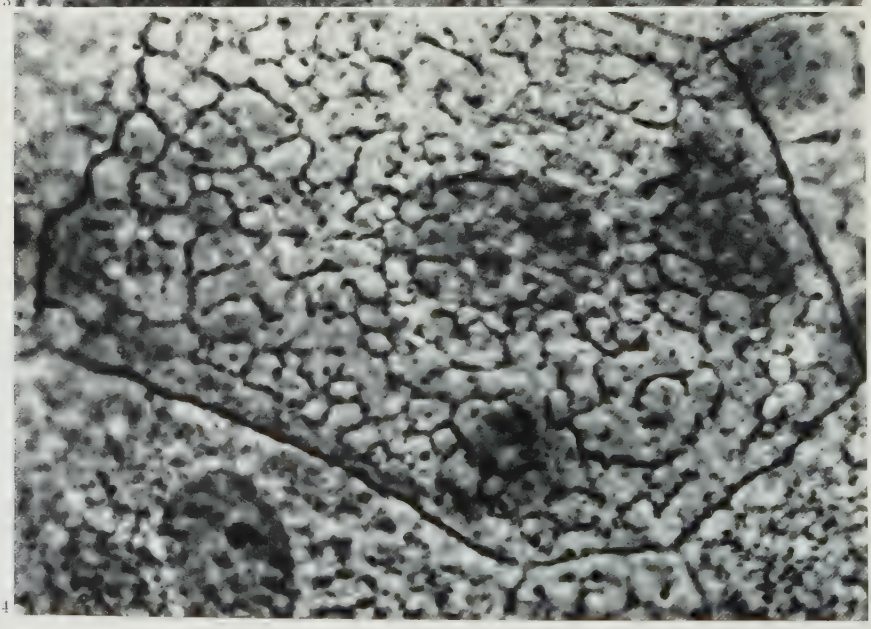


Abb. 14

Abb. 13. Korallenstockartig sich aufzweigender Sekretfortsatz. Allantoisepithel. Häutchenpräparat über Placenta. Methylenblau, Phasenkontrast 1400fach (nachvergr.)

Abb. 14. Aufsicht auf die Oberfläche einer Allantoiszelle, die keine Sekretfortsätze besitzt. Kleine Areale werden durch engstehende feinste Granula (Mitochondrien?) abgegrenzt. Mit Ausbildung der Sekretfortsätze verschwindet die Ordnung der Areale und Granula. Allanto-Amnion. Totalpräparat, Eisenhämatoxylin, 1400fach (nachvergr.)

Oberfläche zahllose kleinste Granula, die charakteristische wabenartige Felder begrenzen (Abb. 14). Nur wenige solcher Gebilde liegen in den kleinen Arealen

selbst. Größenmäßig entsprechen sie Mitochondrien. Sie werden auch nur an formolfixiertem Material bei Eisenhämatoxylinfärbung gefunden. Sobald die Sekretbildung beginnt, verschwinden die Körnchenreihen und die Sekretpunkte (Abb. 6) befinden sich jeweils in der Mitte der in Abb. 14 dargestellten Felder. Die Abstände ihrer Mittelpunkte stimmen mit denen der aus der Plasmaoberfläche entspringenden Sekretfortsätze überein. Ebenso gleichen letztere zahlenmäßig etwa den Felderungen. Der Beginn der Sekretion zeichnet sich durch Zusammenrücken der Körnchen ab, wodurch die Felderungen verwischt werden und an deren Stelle kleine Granulaverdichtungen auftreten. Es besteht zweifellos ein Zusammenhang zwischen der Sekretbildung und diesen Körnchen, die wir vorläufig nur mit Vorbehalt als Mitochondrien ansprechen. Querschnitte durch das Allantoisepithel zeigen zwar elektronenmikroskopisch Mitochondrien; ihr Zusammenhang mit dieser typischen Felderung und Verdichtung an der Oberfläche kann nur durch exakte Flachschnitte erwiesen werden. Diese stehen noch aus.

Die vorliegende Form eines „Deckepithels" wurde bislang noch nicht beschrieben. Sie kommt auch nur in der Katzenallantois vor. Das Bild der verschieden geformten Fortsätze, ihr eindeutiger Ursprung aus der Zelle selbst, angefangen von den runden Tropfen über die cilienartigen Auftreibungen bis zu den langen, an den Reissnerschen Faden erinnernden Gebilde, sowie die positive PAS-Reaktion deuten auf einen nach der Allantoishöhle gerichteten Sekretionsvorgang hin. Unter Pilocarpin, das in die intakte Allantoishöhle in situ befindlicher Embryonen eines laparotomierten Muttertieres appliziert wurde, verstärkte sich die Sekretion.

Im Kapitel über das Amnionepithel wurde bereits die Frage aufgeworfen, ob die von Schaffer (1927), von Broueff und Ebert (1864) sowie Mandl (1905) beschriebenen Fortsätze am Amnion nicht mit denen am Allantoisepithel feststellbaren identisch seien. Im vorliegenden Material wurden sie jedenfalls nicht im Amnion, sondern an der ganzen Allantoisoberfläche, auch der dem Chorion benachbarten, gefunden. Die Mitteilung von Mandl (1905), nach der diese Fortsätze dann stärkere Entwicklung erfahren würden, wenn man den Tieren beide Nieren entfernt hatte, gewinnt dann besonders an Interesse, wenn man annimmt, daß die genannten Autoren Allantois mit Amnion verwechselt haben. Das ist im letzten Drittel der Tragzeit durchaus möglich, wenn man übersieht, daß das Amnionepithel zu diesem Zeitpunkt leicht abplatzt oder sogar degeneriert. Die Vorstellung, daß den embryonalen Nieren bei Wegnahme der mütterlichen allein die Aufgabe der Ausscheidung harnpflichtiger Substanzen zufalle, die nicht mehr über die Placenta in das mütterliche Blut abgegeben werden können, würde sich gut mit der verstärkten Abscheidung in den Allantoissack vereinbaren lassen. Ob sich nach den neueren Befunden am Amnion (Bautzmann u. Mitarb., Petry u. Mitarb.) die Deutung Mandls (1905) über den Zusammenhang zwischen der Ausbildung solcher Fortsätze am Amnionepithel und der Sekretion von Fruchtwasser noch aufrechterhalten läßt, erscheint fraglich. Die Versuche Mandls müßten nachgeprüft werden.

Im übrigen Teil des Cytoplasmas können im Allantoisepithel noch zwei Zonen unterschieden werden. In der Kernebene ist das Plasma sehr fein granuliert und nur gelegentlich trifft man auf Vakuolen. Gegen die Zellbasis wird es dann sehr grobschollig (Abb. 15), was zweifellos mit dem sehr starken Glykogengehalt des

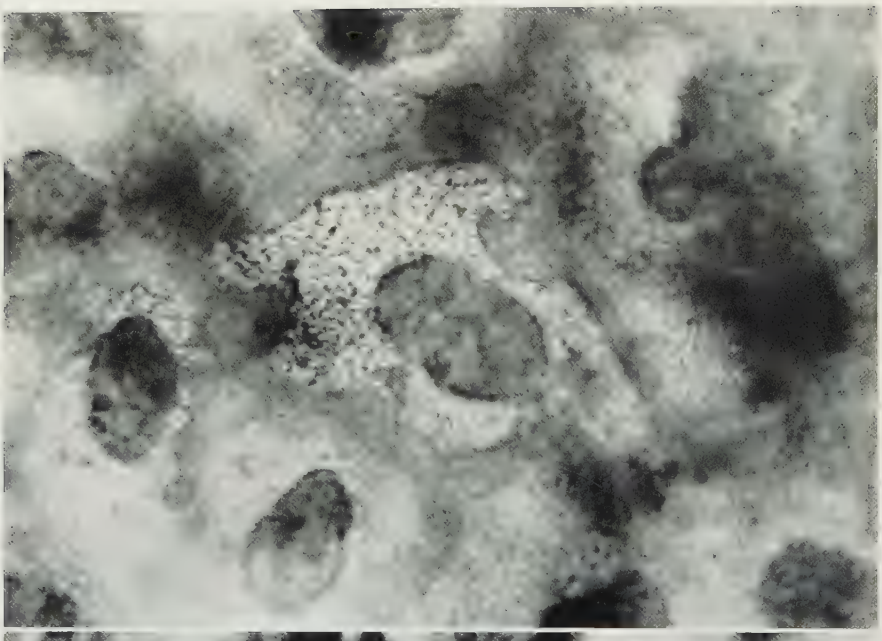


Abb. 15

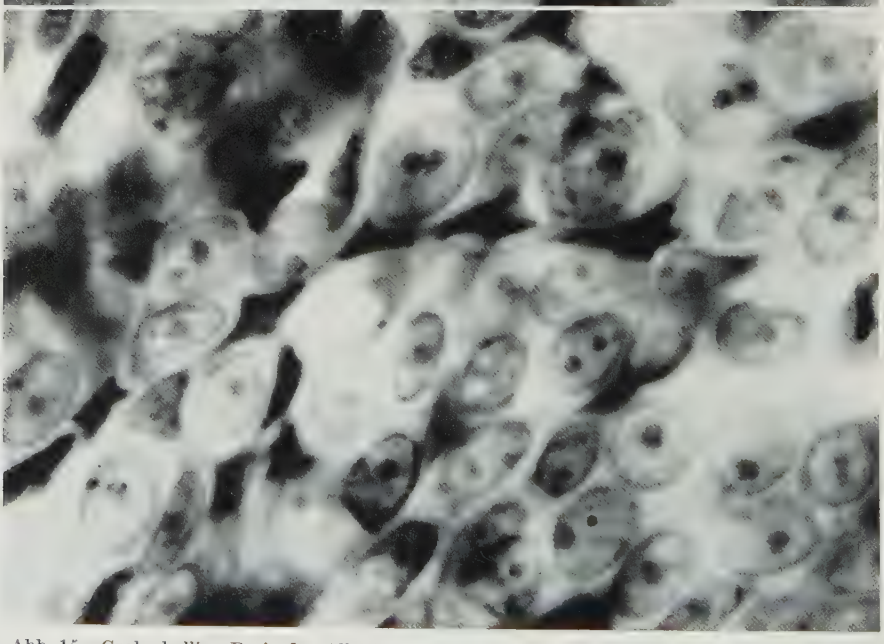


Abb. 16

Abb. 15. Grobschollige Basis des Allantoisepithels, entspricht dem starken Glykogengehalt. Totalpräparat, Chromhämatoxylin-Phloxin nach Gomori, 1400fach (nachvergr.)

Abb. 16. Chorionepithel, Aufsicht, Totalpräparat, Chromhämatoxylin-Phloxin. 1400fach (nachvergr.), s. Text

Allantoisepithels in Zusammenhang gebracht werden kann (s. auch Abb. 7). Von allen drei Fetalmembranen ist das Epithel der Allantois am glykogenreichsten. Einzelne Zellen sind derartig mit *Glykogen* bepackt, daß die ganze Zellfläche als

homogene Masse erscheint, deren Glykogennatur durch Diastase und Speichelproben erwiesen wird.

Ob hier das reichliche Vorkommen von Glykogen als ein Zeichen schlechter Gefäßversorgung und geringer Oxydation angesehen werden muß, wie es Starck (1955, S. 262) für die Placenta angibt, wird zur Diskussion gestellt. Wenn die Angaben Starcks auf die Eihäute übertragen werden sollen, die ja, wenigstens im Bereich des Allanto-Chorions, echte fetomaterne Grenzflächen sind, dann müßte die Allantois über dem Amnion mehr Glykogen aufweisen als über dem Chorion, da in ersterem Abschnitt die Gefäßversorgung ungleich mangelhafter ist. Andererseits müßte das Amnion selbst mehr Glykogen besitzen als die Allantois, da die vorkommenden Blutgefäße zwischen diesen beiden Schichten mehr der Allantois zugeordnet sind und im Bereich des Allanto-Amnions die Gefäßversorgung viel geringer ist als im Allanto-Chorion. Jedoch ist der Allantoisteil über dem Chorion bei bester Kapillarisierung der Zwischenschicht am glykogenhaltigsten, während im Amnion nur äußerst spärlich Glykogen nachgewiesen werden kann.

III. Das Chorionepithel

Das Chorionepithel wurde bereits von Dempsey und Wislocki (1946 und 1956) histochemisch und auch elektronenmikroskopisch untersucht. Die Ergebnisse dieser Autoren wurden z.T. nachgeprüft und bestätigt. Darüber hinaus konnten beim Studium des totalen Allanto-Chorionpräparates ergänzende Befunde erhoben werden, zumal eine Koordinierung der Betrachtungsweise eines Schnittpräparates mit der des Totalpräparates bessere Einblicke in die räumlichen Verhältnisse gewähren kann. Der Vorteil einer derartigen Betrachtungsweise liegt auch darin, daß elektronenmikroskopische Befunde, wie sie schon beim Chorion von den genannten Autoren vorliegen, histotopographisch besser gedeutet werden können.

Dempsey und Wislocki (1946, 1956) haben bei ihren Untersuchungen das „paraplacentare" Gebiet des Chorions untersucht. Diese Region umfaßt nach Angaben dieser Autoren jedoch nur den schmalen Rand entlang der Placenta. Das periphere Chorion wurde nicht berücksichtigt.

Es erhebt sich die Frage, warum im embryologischen Schrifttum bei den Carnivoren als paraplacentares Chorion nur der schmale, durch besonders starke Blutextravasate häufig grün bzw. braunrot verfärbte Saum besonders hervorgehoben wird. Warum sollte das gesamte Gebiet der Chorio-Allantois, soweit diese mit der Uteruswand in Berührung steht, sowohl auf Grund der epithelio-chorialen Verbindung als auch hinsichtlich ihrer funktionellen Bedeutung nicht als Paraplacenta bezeichnet werden können? Die Berechtigung wäre dann gegeben, wenn die in Frage kommenden Gewebsflächen durch ihre Besonderheiten dem „paraplacentaren" Gebiet von Dempsey und Wislocki als gleichwertig gegenübergestellt werden können. Aus diesem Grunde soll an dieser Stelle nochmals auf das Chorionepithel eingegangen werden. Die hier niedergelegten Befunde beziehen sich demnach auf die außerhalb der „paraplacentaren Zone" des bisherigen Schrifttums befindlichen Chorionfläche bei der Katze.

Das Chorionepithel besteht vorwiegend aus hochprismatischen, nur gelegentlich aus niederen Zellen mit formenreichen plasmatischen Fortsätzen, die sehr schlank sein und sich an ihren Enden kolbenartig verdicken können. Ein Teil der Zellen ist breiter, andere erscheinen wieder im Querschnitt sehr schmal. Ein Unterschied gegenüber dem am „paraplacentaren Gürtel" von Dempsey und Wislocki beschriebenen Epithel zeigt sich nur in einer größeren Vielfalt der Zellform, Zellhöhe und in einer größeren Variabilität der Fortsätze. Im Prinzip jedoch gleichen sich beide.

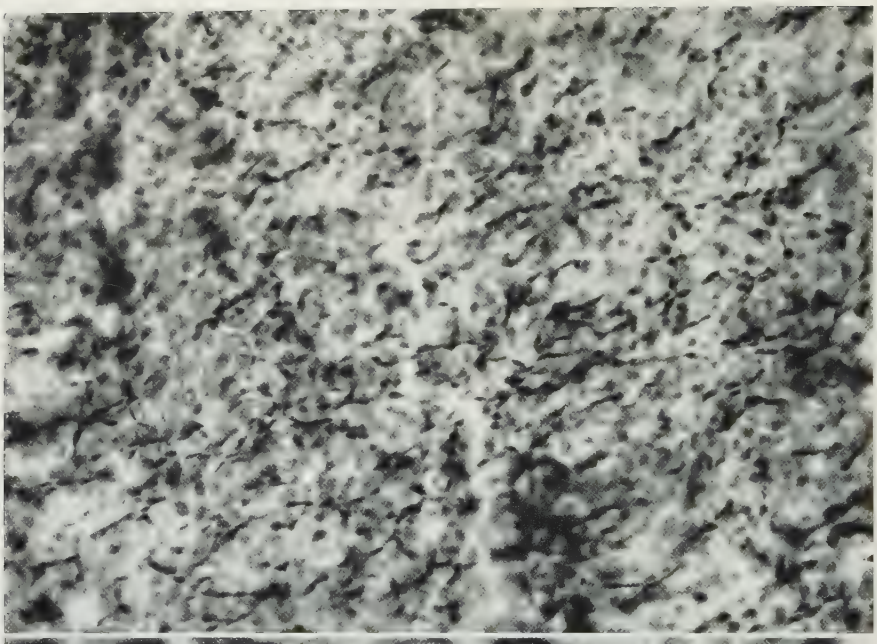


Abb. 17

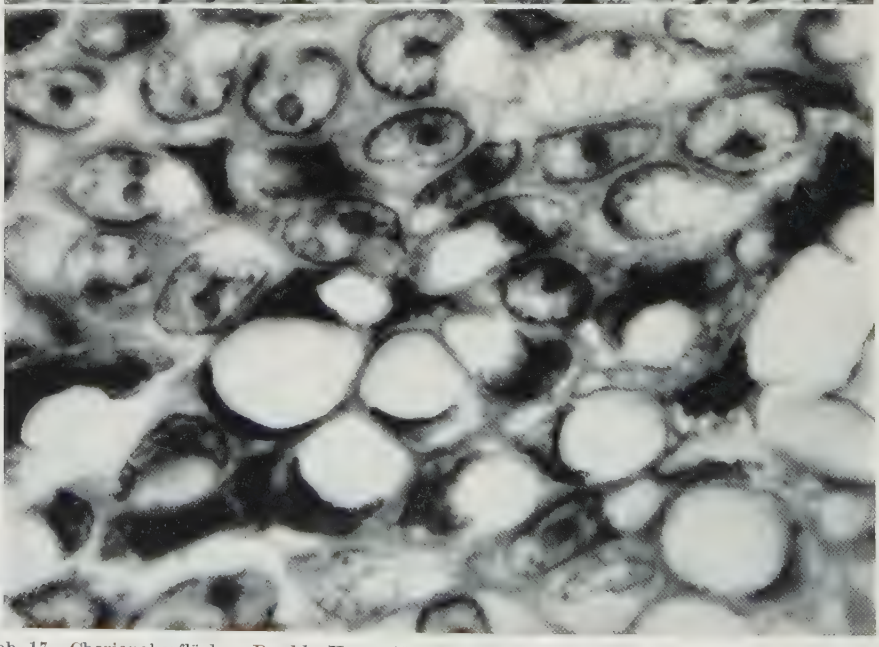


Abb. 18

Abb. 17. Chorionoberfläche. Dunkle Kerne täuschen Gefäße vor (s. Text). Totalpräparat, Chromhämatoxylin-Phloxin, etwa 230fach (nachvergr.)

Abb. 18. Chorionepithel, Flachschnitt. H.E., 1400fach (nachvergr.). Stark vakuolisierte Zellen mit „sichelförmigen" Kernen. Interzellulär gelegene dunkel gefärbte unregelmäßige Gebilde sind nicht immer Kerne

Im Aufsichtsbild auf das Chorionepithel (Abb. 16) treten zwischen den verschieden großen, meist rundlichen Zellen, deren Abstände sehr unterschiedlich

sind, dunkle, kleinere und sehr unregelmäßig geformte Gebilde auf, die zwischen den Zellen, vor allem in Höhe der Kerne liegen. Ihre meist kreisförmige Anordnung um kleinere und größere Chorionzellareale läßt im Übersichtsbild zunächst ein Kapillarmaschennetz vermuten (Abb. 17). Diese Formationen haben uns anfangs getäuscht. Das Zustandekommen dieses Phänomens beruht auf folgenden Besonderheiten der Epithelzwischenräume: diese sind beim Chorionepithel teilweise auffallend weit. Sie färben sich an einzelnen Stellen meist in der Farbe der Kerne an und sind teils basophil, teils acidophil. Bei Glykogendarstellung färbt sich diese Substanz wie die zwischen Uterus und Chorionepithel befindliche histiotrophe Masse leuchtend rot an. Nach Diastase- und Speichelkontrolle bleibt die Rotfärbung bestehen. Es scheint sich demnach um höhere Mucopolysaccharide zu handeln. Während in den oberflächlichen und mittleren Abschnitten diese Zwischenräume mehr oder weniger angefärbt werden, und dadurch gefüllt erscheinen, sind sie gegen die Basis des Epithels zu unregelmäßig und scheinen leer (s. unten S. 363). Die unregelmäßig geformten, durch ihre intensivere Färbbarkeit auffälligen Gebilde (Abb. 16) besitzen manchmal kernähnliche Gestalt, indem ein Teil ihres Umfanges scharf begrenzt erscheint und basophile Reaktionen zeigt. Verfolgt man sie bei stärkster Vergrößerung durch die verschiedenen Ebenen, dann trifft man auf Abschnitte, die zu zerfließen scheinen und dann nicht mehr von der übrigen „Kittsubstanz" der Zwischenräume zu unterscheiden sind. In ihrer Mitte sind sie häufig acidophil. Zuweilen erinnern sie an pyknotische oder sich auflösende Kernreste. Ihre intensive Färbbarkeit, ihre eigentümliche Gruppierung um größere und kleinere Epithelareale in den Zellzwischenräumen ruft nun bei der Aufsicht — da sie orthostatisch getroffen werden — eine schärfere und dunklere Zeichnung hervor, die im Übersichtsbild mit echten Kernen etwaiger Kapillaren verwechselt werden könnten (Abb. 17). An Querschnitten bemerkt man sie daher anfänglich überhaupt nicht. Hinsichtlich ihrer Natur scheinen zwei Deutungen möglich. Einmal kann es sich um Zonen der Zwischenzellsubstanz handeln, deren chemische Zusammensetzung gegenüber der übrigen verändert ist, zum anderen um in Abbau befindliche Plasmamassen von Erythrocyten. Bei allen angewandten Färbungen zeigen diese Stellen einen den Erythrocyten ähnlichen Farbcharakter. Gegen die basalen Abschnitte der Zellzwischenräume, also dort, wo die beschriebenen Gebilde gewissermaßen verdämmern, beginnt bei Eisenreaktion die Blaufärbung.

Dempsey und Wislocki (1946) haben in ihren histochemischen Studien diese Zwischenräume nicht dargestellt, auch in den späteren elektronenmikroskopischen Untersuchungen (1956) finden sich keine Bilder, auf denen diese zwischenzelligen Substanzen zu erkennen wären. Dazu muß bemerkt werden, daß die Zellzwischenräume natürlich nicht überall verbreitert sind. Es gibt Epithelstrecken, deren Zellen eng aneinanderliegen, mit feinen Grenzen, bei denen auch in der Aufsicht die oben beschriebenen Phänomene nicht auftreten. Es ist anzunehmen, daß die genannten Autoren ihre Untersuchungen nicht an Häutchenpräparaten und entsprechenden Flachserienschnitten, sondern nur an Querschnitten durchgeführt haben und dadurch keinen Überblick über größere Gebiete erhielten. Dies ist schon deswegen sehr wahrscheinlich, da die „paraplacentare" Zone alter Nomenklatur nur einen schmalen Saum darstellt, von dem man kaum Häutchenpräparate

anfertigen kann. Beim Hund tritt dieses, ein Kapillarnetz vortäuschendes Phänomen, noch viel deutlicher auf.

Die Zellkerne des Chorionepithels erscheinen durch die sehr feine Verteilung der chromosomalen Substanz blaß, besitzen jedoch auffallend dunkle, große und runde Nucleoli (Abb. 16). Die Kernform wechselt nach dem Grad der Vakuolisierung des Zellplasmas. Zellen, bei denen nur kleine Vakuolen vorhanden sind, besitzen meist einen runden Kern. Hier zeigen sich in der Aufsicht auf Totalpräparate z.T. erhebliche Größenunterschiede (Abb. 16). Bei sehr stark mit Vakuolen durchsetzten Zellen können die Kerne sehr deformiert sein, worauf Dempsey und Wislocki schon hingewiesen haben. Wird der Zellraum von einer sehr großen Vakuole eingenommen, dann erscheinen sie im Schnittbild (Abb. 18) sichelartig, im Totalpräparat als kappenartig den Vakuolen aufsitzende Gebilde. Das Querschnittsbild läßt ihre wahre Gestalt nicht erkennen, wenn sie nur in der Längsachse geschnitten sind. Sie imponieren dann nur als schmale, lange Gebilde.

Es ist durchaus möglich, daß die in der Histologie verschiedener Epithelien als sichelförmig beschriebenen Kerne auf Grund solcher Beobachtungen doch eine ganz andere Form haben. Bei vakuolisierten Epithelien wenigstens dürfte die Form derartiger Kerne nur auf Grund einer kombinierten Flach- und Querschnittsbetrachtung bestimmt werden können.

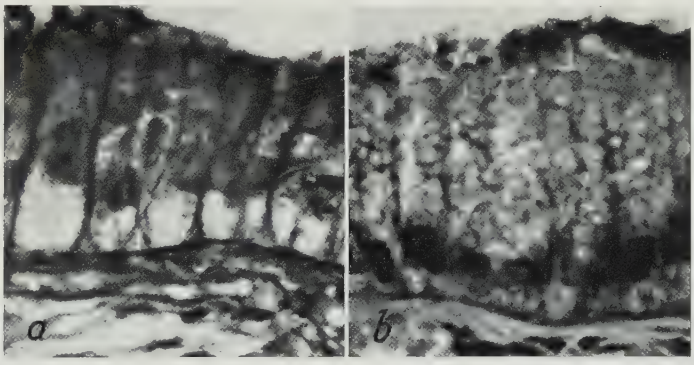
Daneben gibt es allerdings auch echte lange, dünne Kerne, die zu schmalen Zellen gehören. Besondere Hinweise auf Kerndegenerationen wurden bei diesen normalen Formen nur in vereinzelten Fällen gefunden.

Überraschend war nach den Erfahrungen am Amnion- und Allantoisepithel das gehäufte Auftreten von Mitosen. Während am gleichen Totalpräparat im Allantoisepithel nur nach langem Suchen vereinzelt Mitosen gefunden wurden, war das benachbarte Chorionepithel oft davon übersät. Auch wenn man annimmt, daß das Chorionepithel schneller zugrunde ginge und sich damit pro Zeiteinheit häufiger regenerieren müßte, bleibt der Unterschied auftretender Mitosen doch erheblich. Doppelkernige Chorionzellen wurden nicht gefunden.

Die Lage der Kerne ist anscheinend von Funktionsstadien der Zelle abhängig. Sie liegen entweder in der Mitte, wenn sich basal und apikal von ihnen Vakuolen entwickelt haben (Abb. 19a) oder sie liegen mehr basal, wenn die Vakuolen nur apikal über ihnen vorkommen (Abb. 19b). Das *Cytoplasma der Chorionepithelzelle* deutet auf eine rege Tätigkeit hin. Für die paraplacentare Zone haben dies Dempsey und Wislocki (1946) in vielen Einzelheiten bereits beschrieben. Die unserer Betrachtung zugrunde liegende Chorionfläche gleicht weitgehend den Befunden letzterer. Die Phagocytose von Erythrocyten in den apikalen Zellabschnitten, die gebietsweise prall mit Erythrocyten gefüllt sind (Abb. 19b und 20), wird hier genauso wahrgenommen und ist somit keine spezifische Leistung der „paraplacentaren Randzone", wie man es aus den Untersuchungen von Dempsey und Wislocki entnehmen könnte. Auch der Abbau läßt sich verfolgen. Bei der Eisenreaktion ergaben sich jedoch etwas abweichende Beobachtungen. Während Dempsey und Wislocki das gesamte Chorionepithel in einer Zeichnung blau, d.h. mit feinen Eisenkörnchen vollkommen durchsetzt darstellten, wird bei den vorliegenden Präparaten eine Eisenreaktion nur an den basalen und unteren seitlichen Zellabschnitten festgestellt. An der Spitze der Zelle kommt es nur selten zu einer Blaufärbung. Dagegen findet sich diese, wie oben schon

angedeutet, in den basalen Zellzwischenräumen, besonders stark aber in der Basalmembran selbst, sowie im gesamten Bindegewebe der Chorio-Allantois (s. Kapitel Bindegewebe). Es ist anzunehmen, daß der Abbau des Hämoglobins zwar in der Chorionzelle beginnt, daß aber die Speicherung des nachweisbaren Eisens erst im subepithelialen Bindegewebe erfolgt. Möglicherweise liegen hier prinzipielle Unterschiede zwischen der Randzone und den weiteren peripheren Gebieten der Paraplacenta vor. Man muß aber auch in Betracht ziehen, daß die Eisenresorption zeitlich verschieden abläuft, womit sich der Unterschied der vorliegenden Befunde zu denen von Dempsey und Wislocki erklären ließe.

Glykogen wurde gelegentlich nur in den Randzonen kleinerer Vakuolen gefunden. Gegenüber dem sich mit Glykogen voll beladenden Allantoisepithel



a b

Abb. 19 a u. b. Querschnitte aus dem Chorionepithel außerhalb der „paraplacentaren" Zone. Querschnitte, 560fach (nachvergr.). a Basale Vakuolen, intensiv gefärbte, an der Basis sich verbreiternde Zellzwischenräume, Heldsches Molybdänhämatoxylin. b Kerne liegen basal, darüber vakuolisiertes Plasma mit intrazellulär gelegenen phagocytierten Erythrocyten. Chromhämatoxylin-Phloxin

ist das Chorion praktisch glykogenfrei. Bei der Sudanschwarz B-Reaktion finden sich zahlreiche schwarze tropfige Einschlüsse im apikalen Cytoplasma. Die Vakuolen sind sehr unterschiedlich. Es kommen alle Übergänge vor, von kleinsten bis zu solchen, die den ganzen apikalen Zellraum über dem sich dann häufig verformenden Kern einnehmen. Basal liegende Vakuolen sind meist klein. Der Vakuoleninhalt war mit unseren Methoden nicht anzufärben. Dempsey und Wislocki konnten deren Inhalt auch nicht weiter definieren. Daß sich die phagocytierten Erythrocyten nur im Plasma und nicht in den Vakuolen befinden, kann nicht bestätigt werden. An zahlreichen Stellen können erythrocytenhaltige Vakuolen nachgewiesen werden (Abb. 20). Im basalen Plasma werden, auch wieder regional verschieden, Mitochondrien in Form feiner gebogener Fäden und Stäbchen gefunden.

Einer besonderen Besprechung bedarf der *basale Zellabschnitt*. An fast oberflächenparallel geführten Flachschnitten durch das Grenzgebiet zwischen dem basalen Epithelanteil und der Basalmembran werden unregelmäßig verformte Zellteile angeschnitten, zwischen denen sich ein zusammenhängendes Netz von feinsten Kanälchen befindet (Abb. 21). Die Zellanteile sind granuliert und färben sich typisch an. Die Zwischenräume erscheinen bei allen Plasmafärbungen und auch bei Versilberungen leer. Dagegen findet man an ihren Rändern bei Eisenreaktion feinste blau gefärbte Granula und bei der Glykogendarstellung ebenso

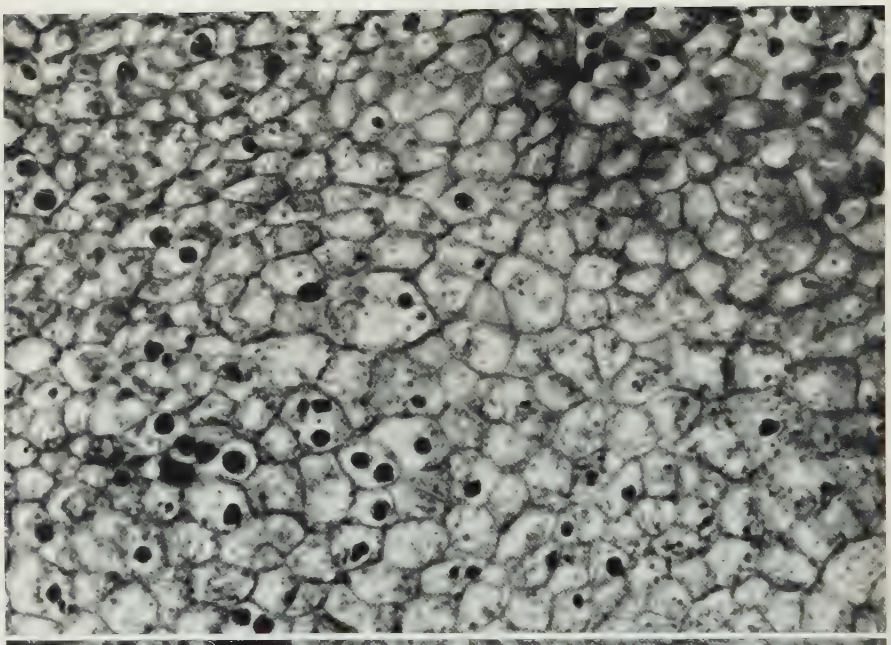


Abb. 20

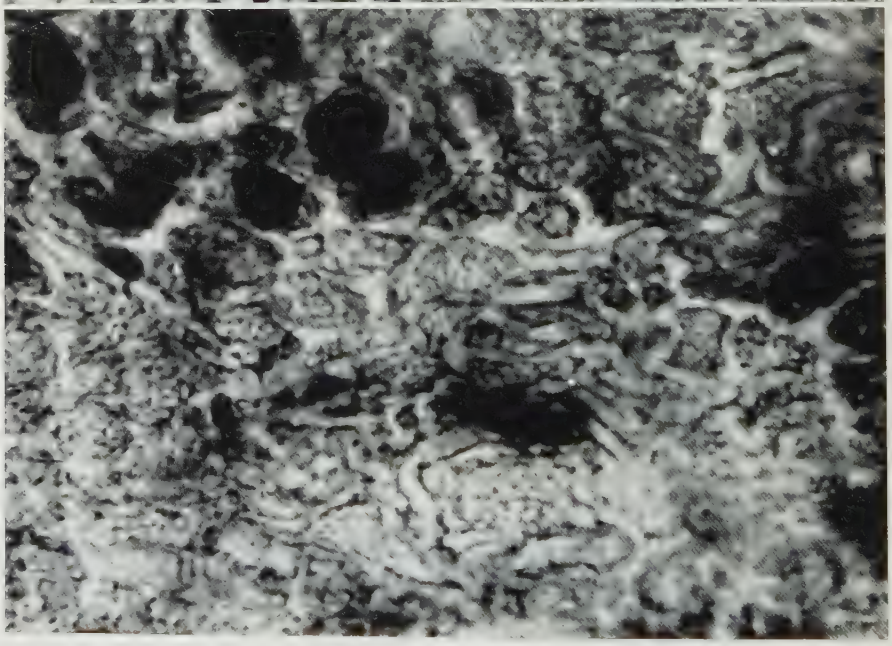


Abb. 21

Abb. 20. Aufsicht auf das Chorionepithel mit phagocytierten, teilweise in Vakuolen liegenden Erythrocyten. Flachschnitt, Eisenhämatoxylin, 560fach (nachvergr.)

Abb. 21. Netz feiner, zwischen den unregelmäßig geformten Unterflächen des Chorionepithels gelegener Räume, die mit den Epithelzwischenräumen (s. Abb. 22) in Verbindung stehen. Flachschnitt durch die Basis des Chorionepithels. Eisenhämatoxylin, 1400fach (nachvergr.)

feine rot gefärbte Glykogenkörnchen. Etwas schräger geführte Flachschnitte ergeben eindeutige Zusammenhänge mit den oben beschriebenen Zellzwischen-

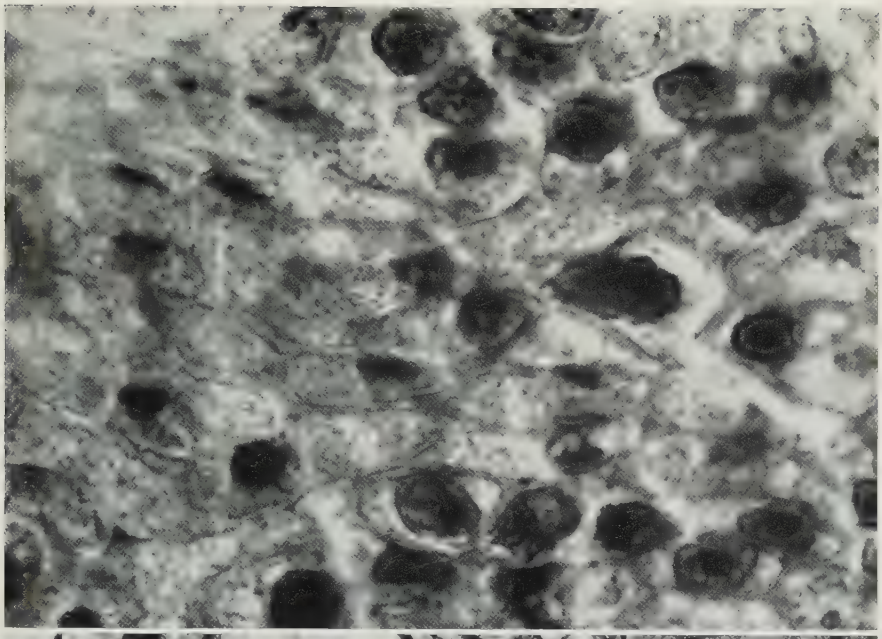


Abb. 22

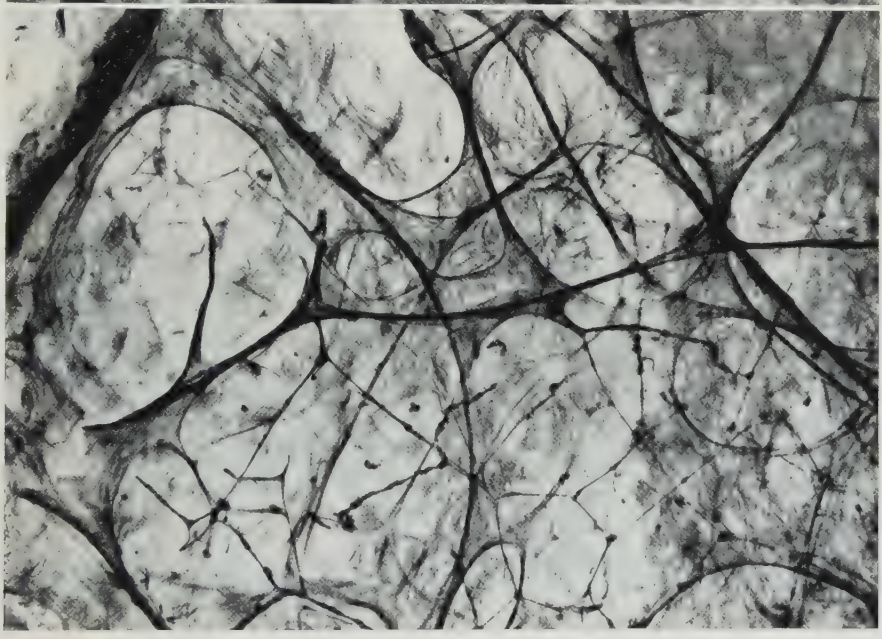


Abb. 23

Abb. 22. Schrägschnitt durch die Basis des Chorionepithels. Zellzwischenräume (im Bild rechts) gehen in ein basal gelegenes Netz erweiterter Räume (im Bild links) über. Vergl. Abb. 21. Eisenhämatoxylin, 1400fach (nachvergr.)

Abb. 23. Allanto-Chorionbindegewebe, grobmaschiges Bindegewebsnetz, die Räume des groben Netzes ausfüllende feinere kollagene Fibrillenbündel (s. Text). Flachschnitt, Versilberung nach Gomori (modifiziert), etwa 230fach (nachvergr.)

räumen (Abb. 22). Elektronenmikroskopisch ist die Existenz dieser Räume von Dempsey und Wislocki anscheinend nicht wahrgenommen worden. Sie befinden

sich auch in einer bislang vernachlässigten Dimension, die für elektronenmikroskopische Darstellungen schon zu groß erscheint. Es handelt sich hierbei um ein feines, zwischen der „geriffelten" basalen Zellfläche und der bindegewebigen Unterlage sich ausbreitendes Raumsystem, das eine Art Übertrittszone für die aus der Zelle an die subepithelialen Bindegewebs- und Kapillarzonen abzugebenden Stoffe darstellt. Die beschriebenen Besonderheiten der unteren Abschnitte machen es wahrscheinlich, daß ein solcher Stoffaustritt außer an der basalen Zellfläche bereits schon im Bereich der basalen seitlichen Zellwände stattfindet.

Der Begriff der Basalmembran bei lichtmikroskopischer Betrachtung deckt sich nicht ganz mit der des elektronenmikroskopischen Bildes. Dempsey und Wislocki beschrieben sie als eine homogene Schicht, in der Gitterfasern eingelagert sind. Bei den vorliegenden Versilberungen an Flachschnitten sehen wir nur ungemein dicht liegende allerfeinste Fäserchen, was sich zwischen ihnen befindet, läßt sich mit dem Lichtmikroskop nicht eruieren. Die unmittelbar die Basalmembran berührenden Kapillaren des Allanto-Chorionbindegewebes sind von diesen feinsten Fasermembranen umgeben und verankert.

IV. Das Bindegewebe des Allanto-Amnion und Allanto-Chorion

Die Bindegewebsschichten zwischen Allantois und Amnion, sowie Allantois und Chorion werden durch das sich hier ausbreitende Gefäßnetz, die spezifischen Zellformen, sowie durch besondere Formationen kollagener und argyrophiler Fasern charakterisiert. Dabei lassen sich Allanto-Amnion und Allanto-Chorion sowohl durch die Eigenart der Anordnung dieser Elemente als auch durch einige cytologische Besonderheiten unterscheiden.

Das Amnion kann verhältnismäßig leicht von der Allantois abpräpariert werden. Beim Chorion ist dies ungleich schwieriger. Der Grund liegt hier in der Art und Weise, wie sich das von der Allantois stammende Gefäßnetz am Chorion verzweigt. Ein regelmäßig zwischen Amnion und Allantois sich einschiebendes „gallertiges Stratum intermedium", wie dies von Starck (1959, S. 81) für die Eutheria allgemein angegeben wird, existiert bei Katze und Hund nicht.

1. Die Anordnung des Fasergerüstes. Wie bei allen Epithelbindegewebsgrenzen an Membranen verteilen sich die Gitterfasern auch bei den embryonalen Hüllen der Katze zu dichten, flächenhaften Netzen. Es erübrigt sich beim vorliegenden Objekt, hierauf näher einzugehen. Allerdings sollte jedes neue Objekt auf die spezifische Anordnung des Fasergerüstes erneut untersucht werden. Das Beispiel des Dottersackes der Ratte (Petry und Zuleger 1958) zeigte, daß von Fall zu Fall besondere Formationen auftreten können, die sich nicht in das allgemeine Schema einfügen lassen.

Unter dem Amnionepithel ist das Gitterfasergerüst wesentlich geringer ausgebildet als bei den bisher untersuchten Spezies. Unter dem Allantois- und Chorionepithel erscheint es etwas dichter. Der übrige Bindegewebsraum hingegen zeigt eine Reihe von Besonderheiten. Aus dem subepithelialen Gitterfasergerüst entwickelt sich gegen die Mitte der verschiedenen Räume ein kollagenes Gerüst, das in zwei Verteilungssysteme getrennt werden kann, eines, das aus groben, weitmaschigen Raumnetzen (Abb. 23) und eines, das aus feinen kollagenen, sich überkreuzenden, dicht stehenden und flächenhaft angeordneten Fasersystemen besteht. Im Allanto-Amnionraum sind die Fasern in ihrer Gesamtheit zarter und das Raumgitter nicht so charakteristisch wie zwischen Allantois und

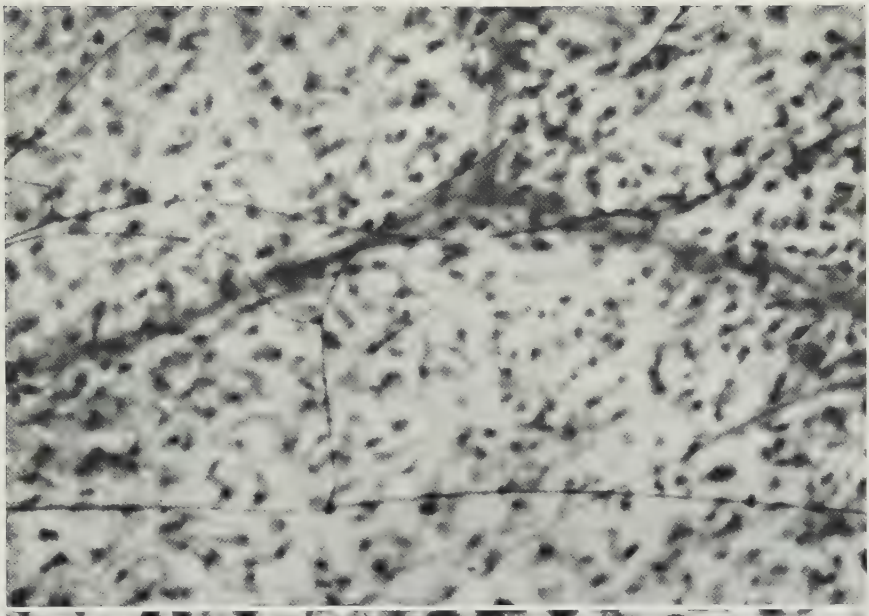


Abb. 24

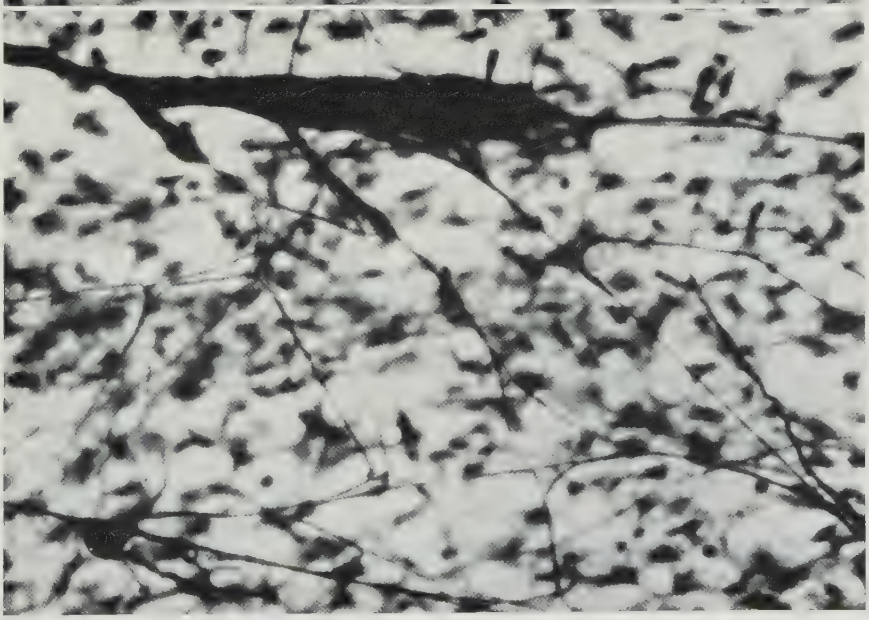


Abb. 25

Abb. 24. Weitmaschiges, aus dünnen Fasern bestehendes „nervenplexusartiges" Netz (s. Text). Allanto-Amnionbindegewebe, Totalpräparat, Chromhämatoxylin-Phloxin, 140fach (nachvergr.)

Abb. 25. Keulenartige Bindegewebsformationen (oben) mit abgehenden feinen Fasern (s. Text). Allanto-Amnionbindegewebe, Totalpräparat, Eisenhämatoxylin, etwa 230fach (nachvergr.)

Chorion. Im Gegensatz zum Raum zwischen Amnion und Chorion beim Menschen (Petry und Damminger 1956), bei dem sich in dem gallertigen Stratum intermedium nie derartige grobe Gerüste befinden, findet sich hier immer ein stärkeres kollagenes Gerüst.

Eine Eigentümlichkeit des Allanto-Amnionbindegewebes sind lange, sich über mehrere Gesichtsfelder erstreckende dünne Fasern, die sich in ungewohnter Weise aufzweigen. Die in Abb. 24 parallel zum unteren Bildrand durch das Gesichtsfeld ziehende Faser gibt zwei im rechten Winkel abgehende Äste ab, von denen der linke etwa gleich dick ist und der rechte gerade noch wahrgenommen werden kann. Beide ziehen nach oben zu einer zweiten ebenfalls quer verlaufenden, durch die Präparation etwas verzogenen Faser. Der Aufteilungsmodus erinnert an vegetative Nervenplexus von Mesenterien oder der Darmwand. Auch zwischen Allantois und Chorion findet man solche, allerdings etwas kleinmaschigere Bindegewebsformationen (Abb. 23). Ihre kollagene Natur wurde durch Polarisation und spezifische Färbungen erwiesen. Charakteristisch ist weiterhin, daß die Abzweigungen fast regelmäßig durch runde Histiocyten markiert werden (Abb. 24). Während diese Faserart sonst keinerlei Beziehungen zu zellulären Elementen zeigen, existieren gestreckte Fasern, die von sehr lang gezogenen Plasmaausläufern eng anliegender Fibrocyten umscheidet werden. Bautzmann hat ähnliche Formen bereits am Amnion (1953) gefunden und ihre Plasmaumhüllung als Fibrocytenhülsen bezeichnet.

Bautzmann hat diese bei frühen Entwicklungsstadien des Menschen beobachtet. Sie kommen dort nach unserer Erfahrung allerdings seltener vor. Beim Allanto-Amnion des Schweines z. B. treten sie gehäuft auf und bestimmen dort nahezu das gesamte Bindegewebsbild. Das uns vorliegende vergleichende Material zeigt, daß diese langgestreckten Fasern eine Eigentümlichkeit des Allantoisbindegewebes sind.

Auffallend ist ihr Zusammenhang mit unregelmäßig geformten kollagenen Gebilden, die oft keulenförmig verdickt sind (Abb. 25) oder an die Dendritenform motorischer Vorderhornzellen erinnern (Abb. 25 links unten). Von ihren Rändern gehen kleine, teils stumpfe, teils spitz ausgezogene, sich intensiv färbende Fortsätze ab, von denen dünn ausgezogene kollagene Fasern entspringen (Abb. 25). Ein Teil dieser bindegewebigen Formationen steht mit dem weitmaschigen Blutgefäßnetz der Allantois in Zusammenhang. In den verdickten, unregelmäßigen Gebilden (Abb. 25) werden vielfach aufgewundene, mit Erythrocyten gefüllte Kapillarschlingen angetroffen, von denen einzelne am Rande zipfelig aus dem Konglomerat ausgezogen sind, spitz zulaufen und in lang ausgezogene Fibrocytenketten übergehen.

Besonders eindrucksvoll ist dieses Verhalten bei den frühen Entwicklungsstadien des Schweines, worauf in einer weiteren Mitteilung eingegangen werden soll.

Im Allanto-Amnionbindegewebe werden schließlich weitere charakteristische Fasern angetroffen, die von allen bisher untersuchten Embryonalhüllen nur der Katzenallantois eigen sind (Abb. 26). Es handelt sich meistens um feine Faserstrecken, die sich aus dem beschriebenen Bindegewebsnetz, häufig aus den in Abb. 25 dargestellten bizarren Gebilden, aber auch aus dem Begleitbindegewebe der weitmaschigen Blutgefäßnetze entwickeln. Sie sind entweder gestreckt oder haben einen unregelmäßigen Verlauf und verdämmern in kaum mehr anfärbbaren Enden. Ihre charakteristischen Merkmale sind zahlreiche eng hintereinandergereihte, trichterförmige Auftreibungen (Abb. 26), die — allerdings in anderen Dimensionen — den Golgi-Trichtern ähneln. Ihr Färbungsbild entspricht nicht ganz dem kollagener Fasern. Im polarisierten Licht jedoch verhalten sie sich wie letztere. Beziehungen zu zellulären Elementen konnten nicht eindeutig festgestellt werden. Ihre gelegentliche Verbindung mit dem adventitiellen Binde-

gewebe größerer Allantoisblutgefäße lassen vermuten, daß es sich um zurückgebildete kleine Gefäßäste handelt.

2. Die Bindegewebszellen. Das Zellbild des Bindegewebes dokumentiert durch seine Mannigfaltigkeit das dynamisch-funktionelle Geschehen in den Embryonalhüllen. Während in den frühesten Entwicklungsstadien die typische Form der Embryonalbindegewebszelle bestimmend ist, differenzieren sich bei fortschreitender Entwicklung und zunehmender funktioneller Beanspruchung der Hüllmembran zunächst zwei Typen aus, Fibrocyten und Histiocyten.

Verteilung der Zelltypen in den verschiedenen Schichten. Unter dem Amnionepithel finden sich vorwiegend dichte Ansammlungen flächenhaft ausgebreiteter Fibrocyten (Abb. 27), wie sie bei vielen anderen Objekten schon beschrieben wurden. Ihre membranartigen sehr dünnen Plasmafortsätze verbinden sich. Je nach der Dichte der Fibrocyten entstehen dadurch weit- oder engmaschige Netze.

Im subepithelialen Allantoisgebiet ist das Fibrocytennetz teilweise weniger ausgeprägt. Neben diesem wird hier eine Massierung kleinerer Histiocyten angetroffen, die manchen Bezirken das Aussehen geben, als seien sie mit Rundzellen infiltriert (Abb. 28). Ihr gehäuftes Auftreten gilt sowohl für den dem Amnion als auch für den dem Chorion gegenüberliegenden Allantoisabschnitt. Unter dem Amnionepithel sind sie nicht so zahlreich wie unter der Allantois. Die Zahl dieser Makrophagen nimmt im Gegensatz zu den Befunden am menschlichen Amnion (Bautzmann 1955) gegen die Mitte und das Ende der Tragzeit nicht ab.

Abb. 26. Bisher nur bei der Katze festgestellte, wahrscheinlich degenerierende kollagene Fasern mit an Golgi-Trichter erinnernde Deformierungen (s. Text). Aus Totalpräparat, Allanto-Amnion, Eisenhämatoxylin, 560fach (nachvergr.)

An einen Zusammenhang zwischen dem gehäuften Auftreten von Histiocyten und der Stoffwechselfunktion des Allantoisepithels muß gedacht werden. Gegen die Mitte zwischen Allantois und Amnion bzw. Chorion, in den sog. Zwischenschichten, lockert sich das Bindegewebsnetz etwas auf. Eine wesentliche Reduktion der Zellen auf Grund derer man von einer zellarmen „gallertartigen" Intermediärschicht sprechen könnte, findet jedoch nicht statt. Der größte Teil der Zellen scheint an das Fasergerüst oder an das Begleitbindegewebe des Blutgefäßsystems gebunden zu sein. In den Zwischenräumen befinden sich verschiedenste Formen freier Zellen. Darüber hinaus kommt es zur Ausbildung einiger Formationen, auf die weiter unten eingegangen werden soll.

Cytologische Befunde. Die beiden Grundtypen, Fibrocyten und Histiocyten, erfahren unter mechanischen und — wahrscheinlich auch auf Grund ihrer Beteiligung am Stoffwechselgeschehen — unter funktionellen Einflüssen z. T. erhebliche

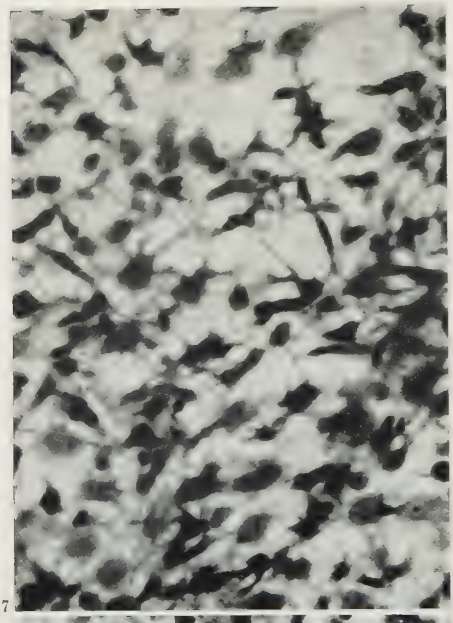


Abb. 27

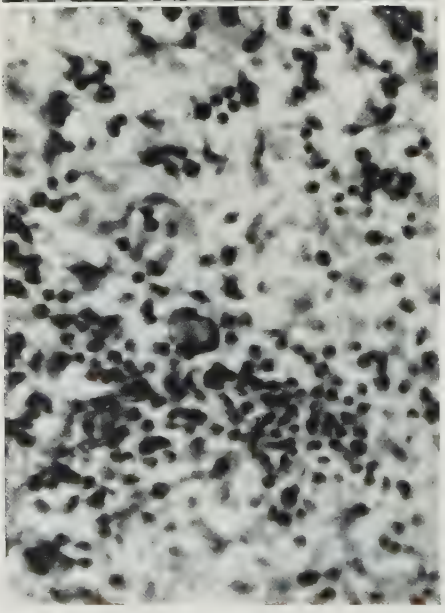


Abb. 28

Abb. 27. Dichtes Fibrocytennetz unter dem Amnion. Allanto-Amnion, Totalpräparat, Methylenblau etwa 230fach (nachvergr.)

Abb. 28. Massierung kleiner lymphocytenähnlicher Histiocyten unter dem Allantoisepithel. Allanto Amnion, Totalpräparat, Heldsches Molybdänhämatoxylin, etwa 230fach (nachvergr.)

Formwandel (vgl. A. Benninghoff 1923). Dabei nähern sich ihre Formen soweit, daß ihre Unterscheidung häufig schwierig, wenn nicht unmöglich wird. Für jeden Zelltyp läßt sich jedoch bis zu einem bestimmten Punkt, nämlich den, der eine morphologische Unterscheidung beider schwer macht, eine Formenreihe zusammenzustellen.

Fibrocytenformen. Die Fibrocyten werden durch dreierlei äußere Bedingungen in bestimmte Formen gedrängt:

1. An der Grenze zum Epithel breiten sie sich zu flachen, membranartigen Verbänden aus.

2. In den Zwischenschichten ändern sich die Bedingungen. Die Zellen sind zwar auch vorwiegend in der Membranebene orientiert, aber sie haben doch Raum genug, sich auch in der dritten Dimension auszubreiten.

3. Schließlich gruppieren sich Lagen von Fibrocyten als adventitielle Zellen entlang der weitmaschigen Blutgefäße und verformen sich entsprechend.

Die Formenreihe der Fibrocyten beginnt mit kleinen spindeligen, teilweise verzweigten Zellen in Zellverdichtungen, die als *Wachstumszentren* bezeichnet werden sollen. Diese geben Übersichtspräparaten ein fleckiges Aussehen (Abb. 29). Sie ähneln teilweise Kulturen gezüchteter Bindegewebszellen mit einem dichteren Kern und Randschleiern. Andere Stellen solcher Verdichtungen sind wieder unregelmäßig oder scharf begrenzt und abgerundet. Alle enthalten Mitosen. Es handelt sich demnach im Prinzip um ähnliche Wachstumszentren im Bindegewebe wie sie auch beim Epithel (Petry und Zuleger 1958) vorkommen. Das Wachstum in Gewebsmembranen geht anscheinend von solchen Zellverdichtungen aus. Diese sind unregelmäßig verteilt und treten zeitlich verschieden auf. Vermutlich spielen hierbei örtliche Spannungen innerhalb eng umgrenzter Bezirke eine Rolle. Gelegentlich

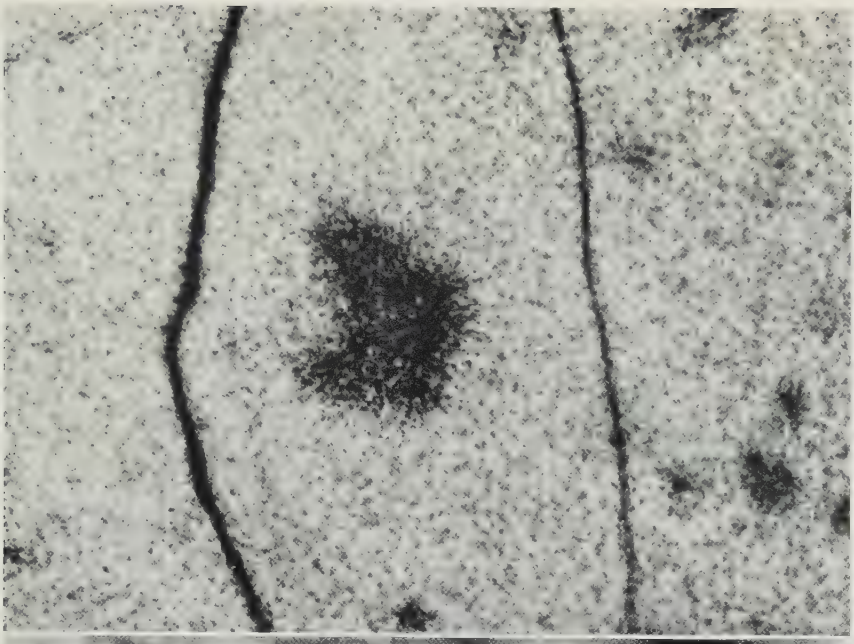


Abb. 29

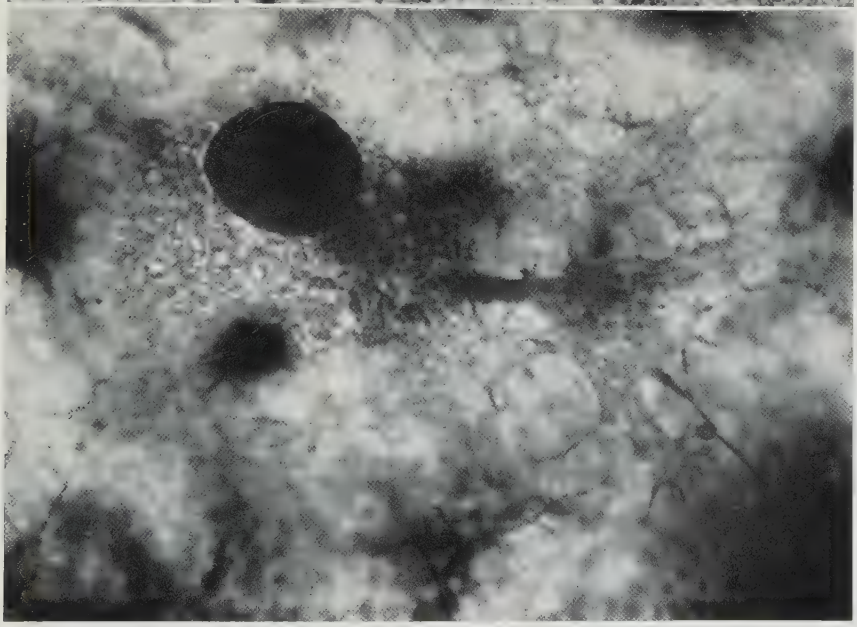


Abb. 30

Abb. 29. In Form isolierter Flecken auftretende, an Kulturen erinnernde Verdichtungen von Fibrocyten: Wachstumszentren (s. Text). Allanto-Amnion, Totalpräparat, Chromhämatoxylin-Phloxin (Grünfilter), etwa 60fach (nachvergr.)

Abb. 30. Fibrocyt mit dicht granuliertem Plasma. Weitflächige dünne, in der Peripherie granulaarme Plasmaschleier. Einige kleine perinukleäre Vakuolen. Allanto-Amnionbindegewebe, Totalpräparat, Eisenhämatoxylin, Phasenkontrast, 1400fach (nachvergr.)

erscheinen gehäufte Mitosen auch in allen übereinanderliegenden Schichten (z. B. Allantois—Zwischenschicht—Chorion) eng umschriebener Bezirke der

Embryonalhüllen. In diesen Fällen müßten gleiche mitoseauslösende Bedingungen vorliegen.

Irgendwelche zellulären Einschlüsse, Vakuolen oder Granula sind hier nicht festzustellen. Diese jugendlichen Fibrocyten sind unauffällig. Das Plasma färbt sich intensiv. An den Rändern der Wachstumszentren (Abb. 29) breiten sich die Zellen aus. Sie werden besonders in den subepithelialen Lagen ganz flach. Das Hauptkontingent dieser Fibrocyten besitzt einen großen, ovalen bis runden Kern, der sich von den etwas kleineren der Histiocyten durch geringere Färbbarkeit unterscheiden läßt. Er enthält durchschnittlich 1 bis 2 große, runde, scharf gezeichnete Nucleoli. Im Querschnitt sind die Zellen kaum auszumachen (Abb. 9). Ihre Kerne sind dort nur als schmale, längliche Gebilde zu erkennen. Ihre Gestalt kann nur im Aufsichtsbild erfaßt werden. Die membranartigen Ausläufer der Fibrocyten (Abb. 30) schieben sich teilweise übereinander. Im Lichtmikroskop erweckt dies den Eindruck eines plasmatischen Kontinuums. Die hauchdünnen Randschleier sind färberisch kaum mehr zu erfassen. Das bunte Mosaik vielfältiger Formen weist auf die unter der Funktion sicher stark variierende Gestalt interzellulärer Verbindungen hin. Das Fixationsbild gibt uns nur ein Momentbild der hier ablaufenden Dynamik des Randplasmas an und für sich ortsständiger Zellen. Kulissenartig verschieben sich unter bestimmten funktionellen Reizen die Randschleier zu einer wahrscheinlich lückenlosen plasmatischen Dialysiermembran. Im anderen Extremfall (Abb. 31) vermögen sich die Zellen so weit zu retrahieren, daß ihre plasmatischen Verbindungen entweder gelöst werden oder nur langgestreckte, dünne Brücken bestehen bleiben, so daß die Einzelzelle in der Aufsicht oft stachelartigen Charakter annimmt.

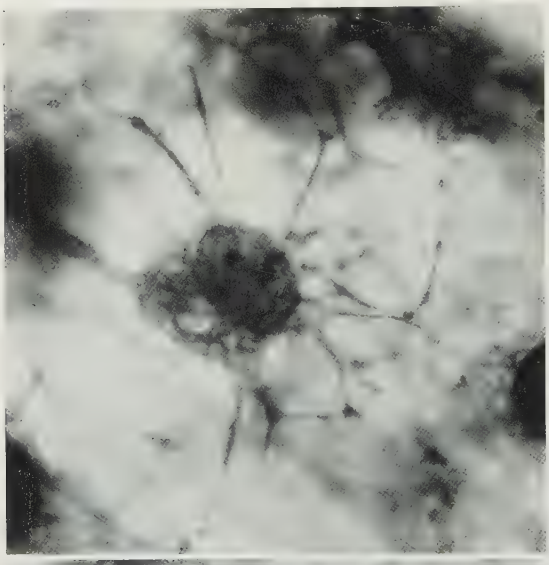


Abb. 31

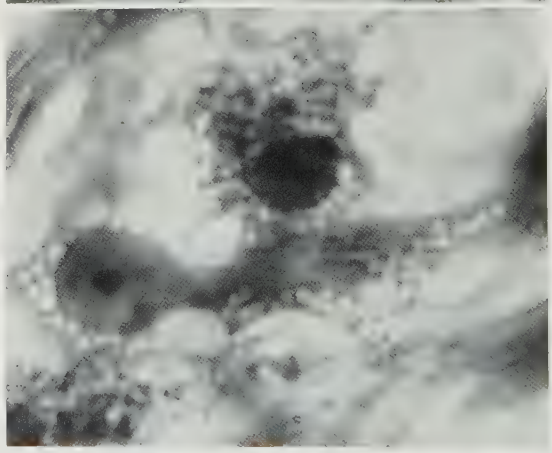


Abb. 32

Abb. 31. Fibrocyt mit dendritischen Fortsätzen. Allanto-Amnionbindegewebe. Totalpräparat, Eisenhämatoxylin, 1400fach (nachvergr.)

Abb. 32. Fibrocyt mit dicht stehenden Vakuolen, darüber ein Histiocyt. Allanto-Amnionbindegewebe, Totalpräparat, Heidsches Molybdänhämatoxylin, 1400fach (nachvergr.)

Das Plasma ausgebreiteter Fibrocyten zeigt zwei Stadien. Bei den einen (Abb. 32) sind zahlreiche unmittelbar dem Kern angelagerte Vakuolen vorherrschend, die auch in den Fortsätzen perlschnurähnlich angeordnet sind. Einzelne, im Randplasma liegende Vakuolen können zu großen Blasen zusammenfließen. Ihr Inhalt färbt sich nur bei einem Teil. Einige sind überhaupt nicht anfärbbar. Das Auftreten von Vakuolen im Plasma von Fibrocyten ist nicht immer Ausdruck einer Verfettung. Dies mag für gezüchtete Fibrocyten der Fall sein. In den vorliegenden Gewebsflächen, die im Zentrum zwischen zwei hochaktiven Epithelverbänden liegen, kommen sie jedoch ebenso mit allen Stoffwechselprozessen in Berührung, wie diese Epithelverbände selbst.

Andere Funktionsstadien zeichnen sich durch ein dichteres, in Kernnähe grob granuliertes Plasma aus, wobei auch kleine Vakuolen auftreten können. Das periphere Plasma wirkt homogener (Abb. 30). Einzelne Vakuolen färben sich mit Sudanschwarz an, andere enthalten am Rande feinste Glykogengranula. Nach Injektion von Vitalfarbstoffen (Neutralrot und Trypanblau) in die Allantoishöhle lebender Embryonen (in situ) speichern auch die subepithelialen Fibrocyten, wobei einzelne Vakuolen sich färben, andere dagegen ungefärbt bleiben. An ungefärbten, nicht, oder nur mit Formalin fixierten Häutchen leuchten ein Teil der Vakuolen im polarisierten Licht hell auf und zeigen das für Cholesterin typische „Malteserkreuz".

Lebendbeobachtungen unter verschiedenen funktionellen Einflüssen könnten hinsichtlich des Formwechsels sehr aufschlußreich sein. Die beschriebene Fibrocytenform und die von ihr gebildeten, bei verschiedenen Species (weniger bei der Katze) geradezu epithelartigen Charakter annehmenden Verbände (Petry 1959) sind als eine Anpassungsform von Zellen aufzufassen, die sich unter einem unter Spannung und Druck stehenden Epithel flächenhaft ausbreiten müssen.

Welche Rolle die während des Stoffwechsels auftretenden Insulte beim Zustandekommen des Formenreichtums und der intrazellulären Besonderheiten von Fibrocyten spielen, läßt sich noch nicht überblicken. Mit der vielfältigen Ausbreitung der Fibrocytenfortsätze, die selbst noch feinste, teils spitze, teils kleingranulierte, filigranartige Vortreibungen besitzen, wird eine möglichst große Plasmaoberfläche geschaffen. Dies gilt auch für Histiocyten.

Zwischen den Bindegewebszellen finden sich, losgelöst von der Zelle, unregelmäßig geformte oder abgerundete Plasmateilchen (Abb. 33a), die sich, soweit sie von Fibrocyten abstammen, schlechter, z.T. kaum mehr anfärben. Sie scheinen aufgelöst zu werden. Die abgerundeten, oft histiocytenähnlichen Mutterzellen dieser Absprengungen (Abb. 33b) gehen jedoch nicht zugrunde. Häufig werden ganze Fortsätze abgeschnürt, deren Ränder abgerundet sind und deren Plasma teilweise homogener erscheint (Abb. 33a und b). Solche Absprengungen verdämmern.

Ein großer Teil der Fibrocyten richtet sich nach dem grobmaschigen Bindegewebe aus. Die Zelleiber liegen entweder im Maschenraum der Fasern oder eng an letztere angeschlossen. Im ersteren Falle verankern sie sich mit einzelnen, verschieden lang ausgezogenen Protoplasmafortsätzen an kollagenen Fasern, die sie teilweise umscheiden. Die übrigen Fortsätze sind frei und von verschiedener Gestalt. In anderen Fällen legen sich Fibrocyten als lang ausgezogene, dichte spindelige Zellen kollagenen Fasern an.

Als adventitielle Zellen, entlang der weitmaschigen Blutgefäße (Abb. 34) sind die dem Gefäß näher liegenden Zellen mehr langgestreckt und die peripheren mehr abgerundet. Auffallend ist die streng von der zellärmeren Umgebung abgesetzte zellreiche Adventitia. Im Raum zwischen Allantois und Chorion ist

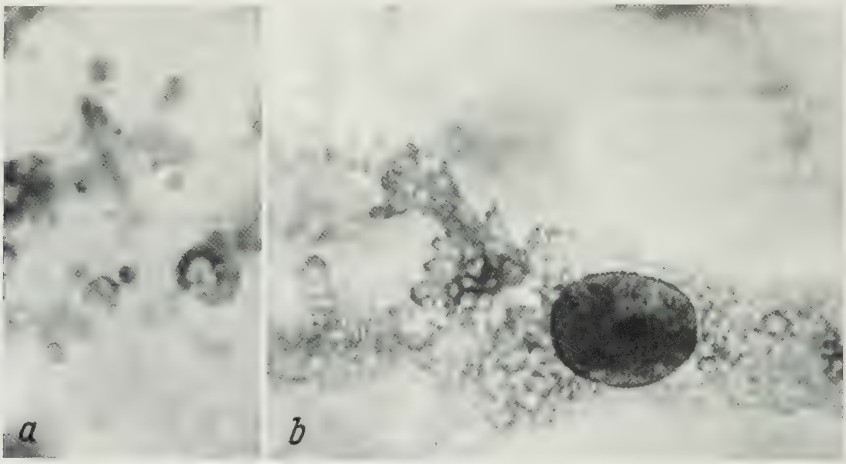


Abb. 33 a u. b. Aus Allanto-Amnionbindegewebe, Totalpräparate, Eisenhämatoxylin, 1400fach (nachvergr.). a Abgeschnürte Fibrocytenfortsätze in verschiedenen Größen (s. Text). b Histiocytenähnlicher Fibrocyt mit abgerundeter, teilweise vakuoliger Plasmaoberfläche und beginnender Abschnürung von Plasmafortsätzen

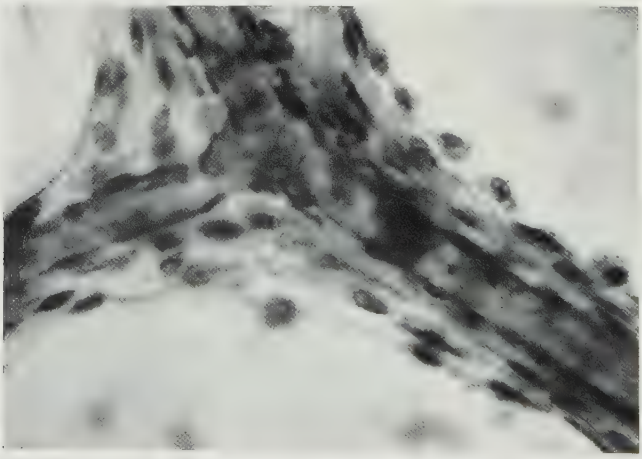


Abb. 34. Begleitbindegewebe um Allantoisgefäße. Außen rechts Histiocyten. Gefäßnahe langgestreckte schmale Fibrocyten. Allanto-Amnionbindegewebe. Totalpräparat, Heldsches Eisenhämatoxylin, 560fach (nachvergr.)

dies nicht so typisch. Die stärkere Kapillarisierung verhindert dort eine solche Massierung von Fibrocyten.

Die Formenreihe der *Histiocyten* beginnt bei kleinen, häufig in Gruppen zusammenliegenden, lymphocytenähnlichen Zellen (Abb. 28) und endet mit großen, den Fibrocyten sehr ähnelnden Zellen. Bei der Beurteilung und Vergleich der kleinen Formen (Abb. 35a—c) mit Fibrocyten ist zu berücksichtigen, daß sie abgekugelt sind und damit im Totalpräparat durchweg etwas intensiver

gefärbt erscheinen. Ihre dichter strukturierten Kerne besitzen meist zwei Nucleoli Das Plasma ist zunächst nur als ein schmaler, sich ebenfalls schwächer anfärbender Saum erkennbar (Abb. 35b). Häufig ist dieser Saum sehr stark granuliert und gibt mit Toluidinblau Metachromasien (Abb. 35d, e). Ihre durch Mitose erfolgende Vermehrung (Abb. 35a) ist in jeder Phase der Formenreihe möglich, wobei sich die kleinen Formen abkugeln (Abb. 35a), jedoch bereits ausgebreitete, mit Fortsätzen versehene Zellen im wesentlichen unverändert bleiben.

Der Übergang zu größeren Formen beginnt mit einer Volumenzunahme der Kerne (Abb. 35d, g), die dicht strukturiert bleiben. Auch die Plasmahöfe werden etwas größer, wobei an einem Teil die für Mastzellen charakteristischen Granula besonders dicht werden (Abb. 35e—h), bei anderen dagegen, unter gleichen Fixierungs- und Färbungsbedingungen nicht. Es scheint sich demnach in dieser Phase der Reihe eine Differenzierung kleiner Zellen in Mastzellen und solche anzubahnen, die zwar in ihrer äußeren Form von ersteren nicht abweichen, sich jedoch durch das Fehlen typischer Mastzellengranula von ihnen unterscheiden. An die Möglichkeit einer Weiterentwicklung beider Zellvarianten zu der klassischen Histiocytenform muß gedacht werden. Hinsichtlich der Mastzellen soll dies später diskutiert werden. Sobald das Plasma sich flächenhaft ausbreitet, erfolgt in den Randzonen eine auffällige Reduktion der metachromatischen Granula (Abb. 35h, i). Die wegen der Spezifität ihrer Granula zuvor als echte Mastzellen anzusprechenden Formen färben sich nunmehr weniger typisch an. Sie verlieren ihre Metachromasie. Einzelne Granula sind bei Toluidinfärbung noch rot-violett, die meisten jedoch, wie die des anderen Zelltypus tingiert, dessen Granula von vornherein basophil sind. In der Nähe des Zellkerns und dort, wo sich das Plasma noch nicht flächenhaft ausgebreitet hat, bleiben die Granula noch dicht (Abb. 35i). Mit der Ausbreitung des Zelleibes hängt auch das Auftreten der „schaumigen" Struktur größer werdender Histiocyten zusammen. In den Granula dicht besetzter Anteile des Plasma entstehen zuerst Aufhellungen, die sich zu kleinsten Vakuolen vergrößern und dann von einem etwas dunkler als das übrige Plasma sich anfärbenden Rand abgegrenzt werden (Abb. 35i, k). Dieser Vorgang könnte als die Ursache der Vergrößerung kleiner Histiocyten gedeutet werden. Vermutlich handelt es sich um Wasseraufnahme, da sich der Inhalt dieser winzigen Vakuolen nicht anfärbt.

Die Zellform wird von hier ab sehr variabel. Die scheinbar plumpe Zelle kann nach allen Seiten dendritenartige Fortsätze entwickeln (Abb. 35l) oder sie strecken sich in die Länge (Abb. 36) mit teils plumpen, keulenartigen, teils aber auch sehr langen, wie bei den Fibrocyten spitz zulaufenden Fortsätzen (Abb. 35i, l). Daß die Histiocyten nur plumpe, keulenartige Fortsätze entwickeln, erweist sich nicht als richtig. Eine weitere häufig anzutreffende Variante der Fortsätze ist in Abb. 37 dargestellt: An den Enden langer, kaum sichtbar zu machender Protoplasmafäden hängen kugelige, meist mit Vakuolen besetzte Plasmateile. Sie tauchen wie langarmige, mit Schöpfkellen bewaffnete Greifer in die flüssige Interzellularsubstanz. Bei diesen Formen wird die Unterscheidung von Fibrocyten schwierig. An Schnittpräparaten werden derartige Gebilde kaum als Ganzes erfaßt. Im übrigen hängt dies auch von der Fixierungstechnik ab.

Wird der uneröffnete Fruchtsack zuerst durch Injektion fixiert und danach Häutchenpräparate hergestellt, dann sind diese Fortsätze meistens plumper und nicht so flächenhaft

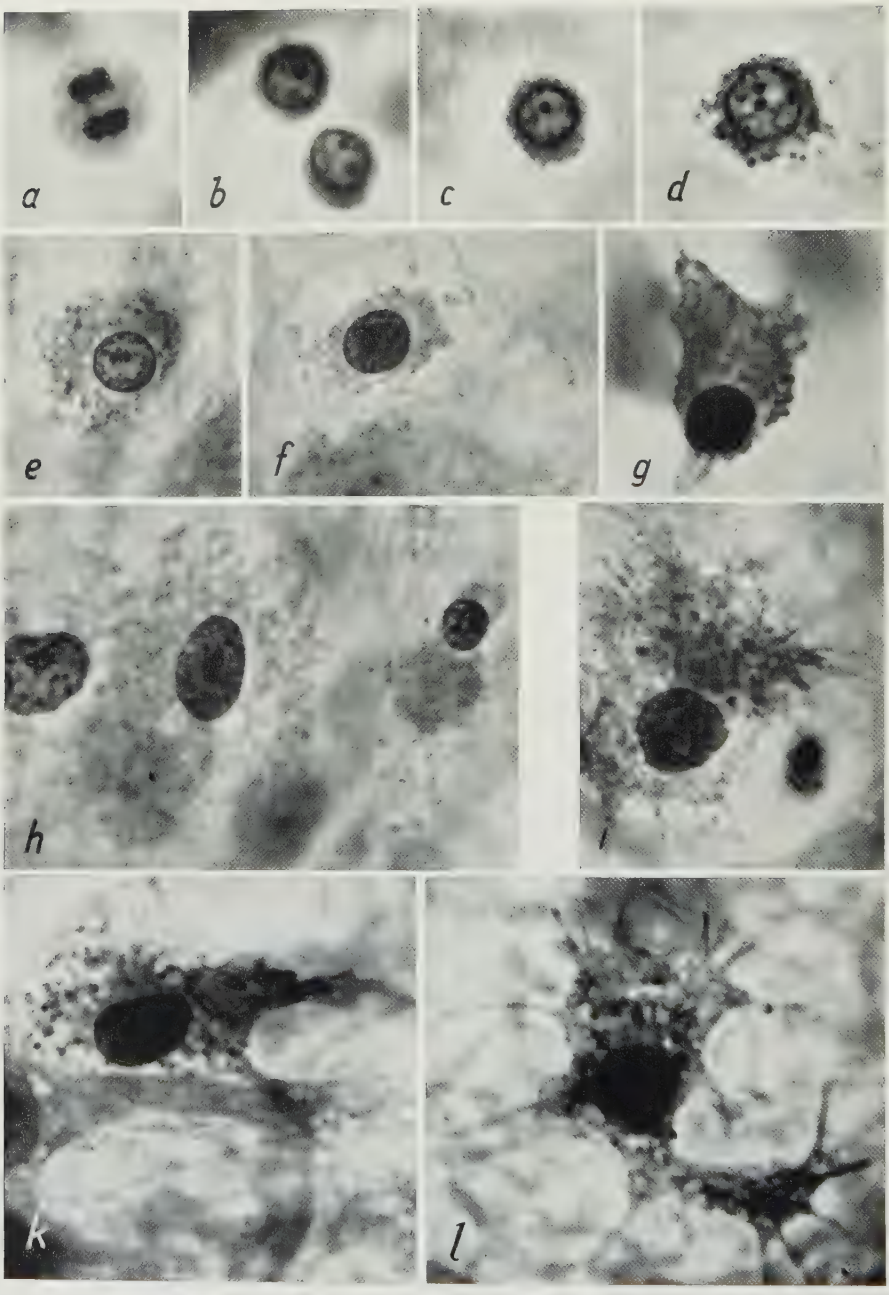


Abb. 35a—l. Zusammenstellung einer Formenreihe von Histiocyten, wie sie in Totalpräparaten des Allanto-Amnions nebeneinander vorkommen. Vergrößerung für alle Abbildungen 1400fach (nachvergr.). a Lymphocytenähnlicher Histiocyt in Teilung, Chromhämatoxylin-Phloxin. b Kleine Histiocyten mit schmalen Plasmahöfen, Heldsches Eisenhämatoxylin. c Kleiner Histiocyt mit granuliertem Plasma, Eisenhämatoxylin. d—f Vergrößerung der Plasmahöfe, teilweise metachromatisch angefärbte Granula. Einzelne Granula (f) liegen extrazellulär. g Exzentrische Lage des Kernes in einem größer werdenden granulierten Zelleib. Chromhämatoxylin-Phloxin. h 3 Histiocytenformen. Zelle rechts mit kleinen dichten Granula (entsprechend f). Mittlere Zelle mit vergrößertem Zellkern und großen aufgequollenen, sich weniger intensiv anfärbenden Granula. Linker Zellkern eines großen Histiocyten entspricht denen von i—k. Chromhämatoxylin-Phloxin, Phasenkontrast. i Histiocyt mit stachel-

ausgebreitet. Die besten Ergebnisse wurden erzielt, wenn der unter Narkose des Tieres entnommene Fruchtsack eröffnet und die Membranen lebensfrisch auf die Ringe aufgespannt und dann sofort fixiert wurden.

Wie die kleinen Formen kommen auch die größeren Histiocyten häufig gruppenweise vor. Sie können sich dabei in Reihen ordnen, wobei sie sich mit Fortsätzen untereinander verbinden. Unter Dehnung der Embryonalhüllen werden die interzellulären Verbindungen, sowie die Histiocyten selbst sehr in die

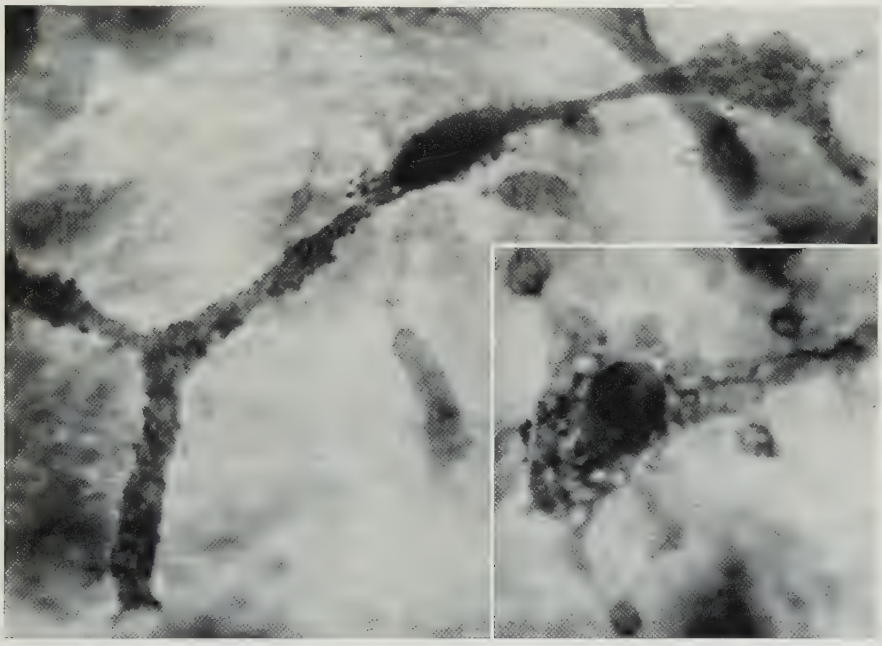


Abb. 36 Abb. 37

Abb. 36. Langgestreckter plumper Histiocyt mit typischer feinkörniger Granulierung. Allanto-Amnionbindegewebe. Eisenhämatoxylin, Totalpräparat, Phasenkontrast, 1400fach (nachvergr.)

Abb. 37. Dendritische Form eines Histiocyten mit z.T. vakuoligen, peripher gelegenen Plasmakugeln, die durch feine Plasmastränge noch mit dem Zelleib verbunden sind. „Schaumige" Umwandlung des Plasmas durch Vakuolenbildung größer werdender Granula. Allanto-Amnionbindegewebe, Totalpräparat, Heldsches Molybdänhämatoxylin, Phasenkontrast, 1400fach (nachvergr.)

Länge gezogen (Petry 1959). Dies scheint dann der Fall zu sein, wenn die Dehnung der Hüllen durch Vermehrung der Inhalte stärker ist als die Teilungsbereitschaft der Bindegewebszellen.

Der Kern nimmt mit Ausbreitung des Zelleibes ebenfalls an Masse zu und nähert sich größenmäßig etwa dem der Fibrocyten. Gleichzeitig wird er auch etwas heller.

Schließlich muß noch ein Befund über das gegenseitige Verhalten von Fibrocyten und Histiocyten Erwähnung finden, der möglicherweise einen Weg zeigt, genauere und aufschlußreichere Untersuchungen über die gemeinsame oder verschiedene Funktion dieser Zellen anzugehen. An Orten gleichmäßigerer

artigen Protoplasmafortsätzen, feinste Aufhellungen in den dunkel gefärbten Granula werden als beginnende Vakuolisierung aufgefaßt. Eisenhämatoxylin, Phasenkontrast. k Großer Histiocyt mit schaumigem Plasma und spießartigen Fortsätzen, große vakuolisierte Granula. Heldsches Molybdänhämatoxylin. l Histiocyt dem Plasma eines Fibrocyten aufliegend. Große, z.T. aufgehellte Granula mit feinsten Vakuolen. Heldsches Eisenhämatoxylin

Verteilung beider Zellarten fällt auf, daß die beweglicheren Histiocyten Kontakt mit den ortsständigen, allerdings gestaltlich ebenfalls veränderbaren Fibrocyten aufnehmen (Abb. 32 und 38). Auch hier stehen wieder alle Möglichkeiten zu Gebote, die sich aus dem Formenreichtum des Zelleibes beider Zellen ergeben. In einem Falle berühren sich nur die gegeneinander ausgestreckten Plasmafortsätze, im anderen kommt es zu breiten, flächenhaften Aneinander- und Übereinanderlagerungen des Plasmas. Dabei können auch die Zellkerne sehr dicht aneinanderrücken, die dann nur von einer außerordentlich dünnen Plasmaschicht beider Zellen getrennt werden.

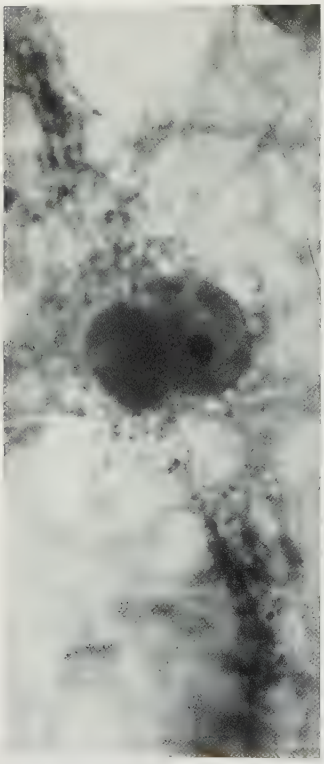


Abb. 38. Paarige Zuordnung von Fibrocyten und Histiocyten. Fibrocyten besitzen große Vakuolen und größere, etwas hellere Kerne. Histiocyten: Fein granuliertes Plasma, kleinere, dunkler gefärbte Kerne. Allanto-Amnionbindegewebe, Totalpräparat. Heldsches Molybdänhämatoxylin, 1400fach (nachvergr.)

Die räumliche Trennung beider Plasmateile ist lichtmikroskopisch und auch bei Phasenkontrastbetrachtung kaum möglich. Das Histiocytenplasma umhüllt die Fortsätze der Fibrocyten, zieht sich an ihnen entlang, löst sich wieder und sucht an anderer Stelle erneut Anschluß. Die Grenzen einzelner Zellformen sind dann schwer auszumachen. An vielen Stellen der Präparate sind beide Zellarten nur zu Paaren anzutreffen (Abb. 38). Die Histiocyten ordnen sich meist nur den Fibrocyten zu, die einen helleren, größeren Kern und deren Plasma die beschriebenen kleinen, runden, dicht stehenden Vakuolen besitzen. Diese Fibrocytenform wiederum besiedelt mit Vorliebe die subepithelialen Zonen. Es liegt der Gedanke nahe, daß sich hinter diesem auffälligen Anschluß von Histiocyten an Fibrocyten ein gesetzmäßiges Verhalten nach Art einer echten Symbiose verbirgt. Ob hierbei die Histiocyten als Transportsymbionten fungieren, müßte anhand weiterer Untersuchungen, besonders an Lebendbeobachtungen, geprüft werden.

Wie bei den Fibrocyten schnüren sich auch von den Histiocyten Plasmateile ab. Diese scheinen jedoch nicht zugrunde zu gehen. Einige Histiocytenfortsätze tragen Kernsubstanz. Sie werden nach Abschnürung vom Kern an die Zellperipherie gedrängt, wo sie häufig in den Fortsätzen auftauchen. Sämtliche Bindegewebsschichten sind durchsetzt mit granulierten „Kernzwergen", die von kleinen Plasmahöfen umgeben werden. Mühelos lassen sich von ihnen Übergänge bis zu den kleinsten lymphocytenähnlichen Zellen feststellen (Abb. 39a—e), womit jedoch noch keine Aussagen darüber verbunden sein sollen, daß es hier zu einer Neubildung von Zellen aus solchen Gebilden im Sinne von Thomas (1937) käme. Auffallend war, daß unterschiedlich große Kernzwerge mit Plasmahöfen vorkommen und andererseits aber nicht festgestellt werden konnte, daß verschieden große Kernteile sich direkt von Histiocytenkernen abschnüren. Weitere Untersuchungen zu dieser Frage sind vorgesehen.

Plurizelluläre Vakuolen. Im menschlichen Amnion wurden mehrfach übermäßig große Vakuolen beschrieben, deren Herkunft entweder aus einer vakuolisierten Zelle („Kollossalzellen", Bautzmann 1953) oder durch Zusammenschluß mehrerer solcher Zellen („plurizelluläre Cysten", Petry 1956) abgeleitet wurden. Im Amnion*bindegewebe* wurden bisher keine „Cysten" beobachtet.

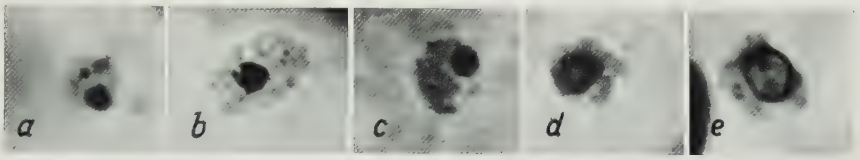


Abb. 39a—e. Reihe verschiedener „Zwergzellen" mit z. T. granulierten Plasmahöfen (a—d) mit Übergangsformen (e) zu kleinen lymphocytenähnlichen Histiocyten (vgl. Abb. 35b). Allanto-Amnionbindegewebe, aus Totalpräparat, Eisenhämatoxylin, 1400fach (nachvergr.)

Das Allanto-Amnionbindegewebe der Katze enthält derartige Gebilde gebietsweise in solchen Ausmaßen (Abb. 40), daß sie nicht als zufällige Erscheinungen irgendwelcher abwegigen zellulären Reaktionen gedeutet werden dürften. Auch hier läßt sich eine Entwicklungsreihe von aus einer Zelle bestehenden Blasen bis

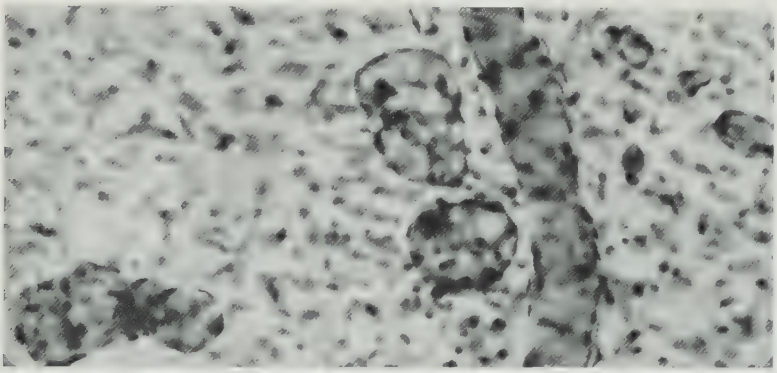


Abb. 40. Plurizelluläre Riesenvakuolen („Resorptionscysten" Petry 1956). Rechts ein-, zweizellige, links neben dem Gefäß mehrzellige Gebilde, s. Text. Allanto-Amnionbindegewebe, Totalpräparat. Chromhämatoxylin-Phloxin. Etwa 230fach (nachvergr.)

zu mehrzelligen „Cysten" zusammenstellen (Abb. 41a—d). Ihre Entwicklung beginnt auf zweierlei Wegen. Bei dem einen rücken mehrere abgekugelte Bindegewebszellen vom Typ der „lymphocytenähnlichen" Histiocyten eng aneinander. Es entstehen Zellkugeln. Ihr Plasma ist nur als schmaler Rand zu erkennen. An der Oberfläche solcher Zellkugeln bildet es oft winzig kleine Füßchen, so daß diese wie von einem feinen Haarpelz überzogen erscheinen. Das sich im Innern der Kugeln berührende Plasma vakuolisiert. In der Mitte bildet sich so ein anfänglich gekammertes Vakuolensystem, dessen Wände später durchbrechen, so daß dann eine einzige große Vakuole bestehenbleibt.

Die zweite Entstehungsart geht von einer einzelnen Zelle aus (Abb. 41a und b). Mehrere solcher vakuolisierten Zellen legen sich zusammen. Über ein „Zweizellenstadium" (Abb. 41c) kommt es zur Ausbildung gekammerter Cysten, deren Wände verschwinden, so daß zum Schluß der Entwicklung eine große mit Flüssigkeit gefüllte Blase bestehenbleibt, die von mehreren bis zu Dutzenden von Zellen umschlossen wird (Abb. 41d).

Über den Inhalt dieser Cysten kann vorläufig nur ausgesagt werden, daß er sich teilweise anfärbt. Mit Eisenhämatoxylin wird er häufig schwarz bis braun, bei Heldschem Molybdänhämatoxylin dunkelblau, nach Chromhämatoxylin-Phloxin leicht rot-violett bis rot. Die PAS-Reaktion ist leicht positiv.

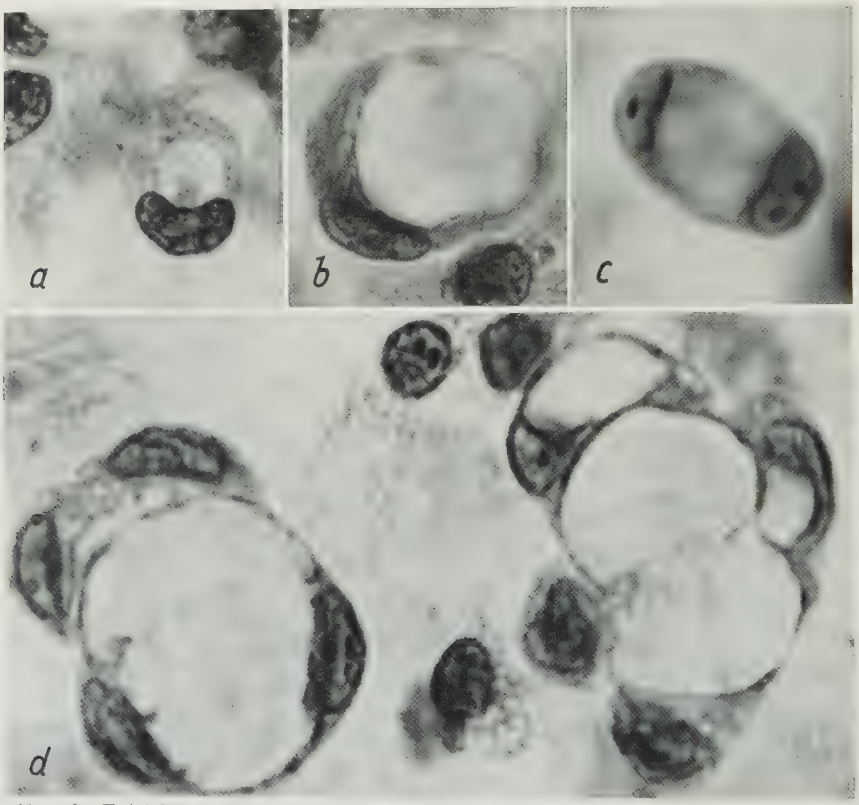


Abb. 41a—d. Entstehungsreihe plurizellulärer Vakuolen (bzw. Cysten). a Vakuole in einer abgerundeten Bindegewebszelle. b Stark vergrößerte monozelluläre „Cyste". c Kleine Cyste mit 2 Kernen. d Zwei plurizelluläre „Cysten", teilweise noch gekammert. Rechte Cyste zeigt in der Mitte eine durchgebrochene Vakuolenwand. Allanto-Amnionbindegewebe. Totalpräparat. a, c und d Toluidinblau, b Chromhämatoxylin-Phloxin. Alle Abbildungen gleiche Vergrößerung: 1400fach (nachvergr.)

Es scheint sich demnach nicht um wasserhaltige Cysten zu handeln. Die Farbskalen ihrer Anfärbbarkeit deuten auf u. U. verschiedene Konzentrationen des Inhaltes hin.

3. Blutgefäße. Das Gefäßsystem der Allantois kann in zwei schon bei Lupenvergrößerung leicht unterscheidbare Gebiete aufgeteilt werden. Dem weitmaschigen Gefäßnetz des zentralen Allanto-Amnionraumes (Abb. 42a) steht ein sehr stark kapillarisiertes Netz im Allanto-Choriongebiet (Abb. 42b) gegenüber. Dieses Verhalten wiederholt sich bei allen Amnioten von den Sauropsiden bis zu den mit einer Allantoisblase ausgestatteten Säugern (Petry 1959). Die vor allem im ventralen Abschnitt des Allanto-Amnions vorkommenden Gefäße (Abb. 42a) entwickeln kein ausgesprochenes Kapillarnetz. Ob ihnen eine funktionelle Bedeutung bei der Resorption von Stoffen von oder in das anliegende Amnion zukommt, kann noch nicht eindeutig beantwortet werden. Möglicher-

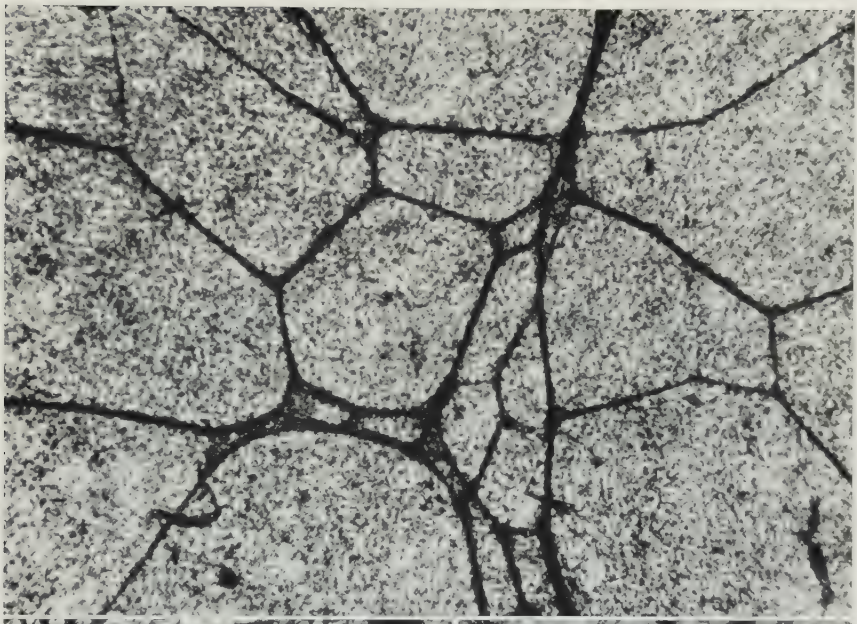


Abb. 42a

Abb. 42b

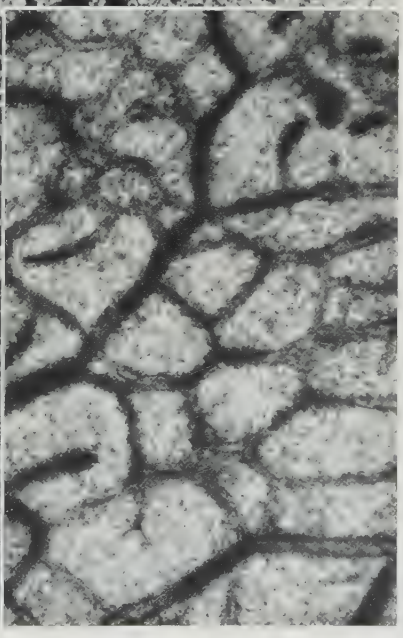


Abb. 43

Abb. 42a u. b. Gefäßnetze im Allanto-Amnion (a) und Allanto-Chorion (b) eines Embryos im letzten Drittel der Tragzeit. Vgl. in Abb. 43 das Gefäßnetz eines Allanto-Amnions im 1. Drittel der Tragzeit. Totalpräparate. Eisenhämatoxylin, 32fach (nachvergr.)

Abb. 43. Blutgefäßnetz im Allanto-Amnion, 1. Drittel der Tragzeit. Kapillarsprossen. Im Vergleich zu späteren Entwicklungsstadien (s. Abb. 42a, gleiche Vergrößerung) noch enge Netze. Totalpräparat. Eisenhämatoxylin, 32fach (nachvergr.)

weise spielen sie eine Rolle bei der Regelung des Wassergehaltes des Allanto-Amnionbindegewebsraums. Ein Hinweis auf eine Beteiligung am Stofftransport

könnte ferner die in ihrer Nähe und an den Gefäßteilungsstellen gehäuft vorkommenden Histiocyten und die oben beschriebenen Resorptionscysten sein (Abb. 40 und 41a d). Es sei in diesem Zusammenhang nochmals auf die Zellverdichtungen der perivaskulären Zonen hingewiesen (Abb. 34). Im übrigen sind die Gefäße des Allanto-Amnions aufschlußreiche Objekte zum Studium des Gefäßwachstums. In rasch sich vergrößernden Amnionblasen halten sie bei der erforderlichen Neubildung von Sprossen nicht Schritt mit den zunächst durch Dehnung sich anscheinend passiv vergrößernden Membranen. Hieraus ergeben sich zwangsläufig die weitmaschigen Gefäßnetze, in denen die einzelnen Gefäße

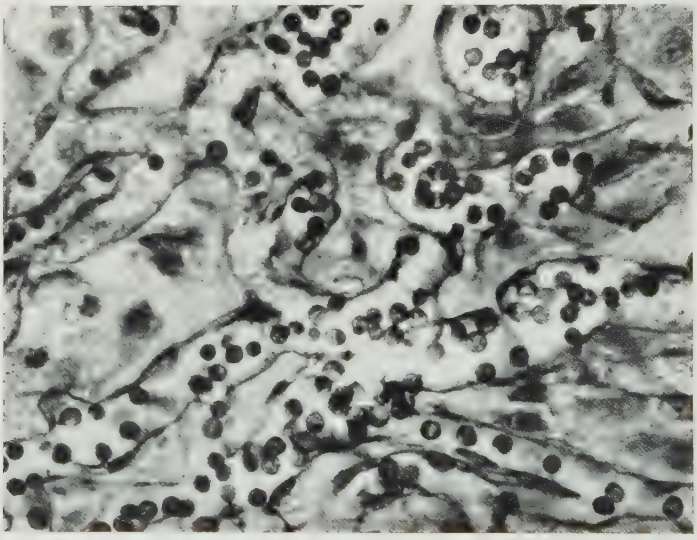


Abb. 44. Sinusoides Kapillarnetz unter dem Chorionepithel. Flachschnitt durch Allanto-Chorion. Eisenhämatoxylin, 560fach (nachvergr.)

augenscheinlich unter der stattfindenden Dehnung gespannt werden (Abb. 42a). Die Vermehrung des Gefäßnetzes erfolgt dann durch Aussprossen neuer Kapillaren, wobei verschiedene Wege beschritten werden können:

1. über knäuelartige Kapillarwucherungen,

2. auf dem Wege langgestreckter Fibrocytenketten, die aus der Adventitia entspringen und die die Gefäßwand zipfelig ausziehen können,

3. über blasige Knospen, die aus der Wand gespannter Kapillaren vorgeschoben werden.

Bei der Katze vermehren sich die Kapillaren im Allanto-Amnion vor allem über Knäuel und Knospen, die im ersten Drittel der Tragzeit als lange, aufeinander zuwachsende Kapillarsprossen vorgetrieben werden (Abb. 43). In den frühen Stadien kann jedoch auch eine freie primäre Bildung von Gefäßwänden im Allanto-Amnion durch eng in Doppelreihen aneinandergelagerte langgestreckte Fibrocyten beobachtet werden (besonders bei Schwein und Schaf). Die Transformation von Fibrocyten zu Endothel erscheint durchaus möglich, wie dies auch an Untersuchungen über neugebildete Gefäßwände auf der Basis alloplastischer Kunststoffprothesen beobachtet werden konnte, die zellfrei in die Aorten eingepflanzt wurden (Petry und Heberer 1958).

Im Allanto-Chorion ändert sich die Architektur des Blutgefäßsystems grundlegend. Dies gilt für alle Species mit einer Chorio-Allantois. Von einzelnen, kräftigen Hauptstämmen strahlen nach allen Seiten der Membranebene zahllose feinste Kapillaren (Abb. 42b). Sie bilden dichteste Netze (Abb. 44). Die Verteilung kann mit der stark kapillarisierter Organe, wie z.B. Leber und Lunge, verglichen werden. Die Kapillardurchmesser sind verschieden. Durch Zusammenfließen mehrerer Kapillaren entstehen sinusoide Gebilde. In den spärlichen Inseln zwischen den Blutgefäßen verspannen sich die Fibrocyten und Histiocyten. Ein dichtes Netz von Gitterfasern verbindet die Gefäße untereinander. Das Prinzip gleicht dem schon früher beschriebener Konstruktionen an anderen Embryonalhüllen (Petry und Zuleger 1958), so daß es sich erübrigt, hier näher darauf einzugehen.

Das gesamte Bindegewebe zwischen den Allanto-Chorionkapillaren färbt sich nach der Berliner Blau-Reaktion besonders stark an, was mit der Resorption von Erythrocyten im Chorionepithel in Zusammenhang gebracht werden muß. Die Reaktion fällt teilweise so stark aus, daß das Fasergerüst durch seine Blaufärbung ganz zur Darstellung kommt. Wahrscheinlich handelt es sich dann um einen Überschuß abgebauten Eisens, das nicht sofort abtransportiert werden kann.

D. Diskussion

Die Embryonalhüllen der Katze wurden nach zwei Gesichtspunkten untersucht. Der eine hatte zum Ziel, nachzuprüfen inwieweit hier, als einem Beispiel der Carnivoren vergleichbare Verhältnisse zu den bisher bearbeiteten Species vorlagen. Zum anderen wurden in diesem Zusammenhang cytologische Fragen aufgeworfen, die sich aus der angebotenen Fülle von Besonderheiten ergaben.

1. Amnion. Das Amnionepithel der Katze unterscheidet sich von den bisher untersuchten Species durch die Größe seiner Zellen, die Vielkernigkeit, das Vorkommen direkter Kernteilungen und Ausbildung von Nebenkernen sowie degenerativer Prozesse im letzten Drittel der Tragzeit.

Die bis zu Durchmessern von 160 μ vergrößerte Epithelzelle weicht erheblich aus dem Rahmen bisher beschriebener Amnien. Daß es sich jedoch nur um eine Besonderheit des Amnionepithels handelt, geht aus der normalen Beschaffenheit der übrigen Zellen (z.B. Allantoisepithel) hervor (Abb. 1a und b). Aus der erheblichen Flächenvergrößerung des Epithels sind wahrscheinlich auch die übrigen Eigenschaften abzuleiten. Diese finden sich im größten Amnionabschnitt über Kopf, Rücken, Steiß, sowie den seitlichen Körperregionen des Feten, weniger an der Bauchseite, und hier besonders in dem nicht von der Allantois bedeckten kleinen Bezirk. Vermutlich bestehen zwischen der Vielkernigkeit der Zellen und ihrer außergewöhnlich geringen Schichtdicke von 2—4 μ direkte, das Kern-Plasmaverhältnis regelnde Beziehungen.

Die Frage, ob das Amnionepithel sich amitotisch oder mitotisch vermehrt, kann auch angesichts der einwandfrei nachgewiesenen direkten Zellteilungen (Abb. 5a—d) nur mit Zurückhaltung behandelt werden (vgl. Bucher 1958, 1959). Vielleicht sind die Amitosen und Nebenkernbildungen, die zur Vielkernigkeit des Epithels führen, Ausdruck einer beginnenden Degeneration. Im Gegensatz zu anderen Species macht das Amnionepithel der Katze den Eindruck einer wenig aktiven Zellschicht. Mit Ausnahme weniger, dicht um den Kern eingestreuter

Granula zeigen sich keine cytologischen Besonderheiten. Lipoide und Glykogen sind kaum nachzuweisen. Stärkere und gehäuft auftretende Vakuolisierungen wie beim menschlichen Amnion (Petry und Damminger 1956) fehlen ebenso wie die total vakuolisierten Zellen oder die „Kolossalzellen" Bautzmanns (1953). Elektronenmikroskopische Untersuchungen ergaben beim Amnionepithel im Gegensatz zu dem der Allantois ein sehr gleichförmiges Plasma ohne endoplasmatisches Retikulum und Mitochondrien. Hierüber soll später berichtet werden. Lichtmikroskopisch nahezu homogen erscheinende, oft in Haufen zusammengeballte Bruchstücke der Epithelien treten im letzten Drittel der Tragzeit gebietsweise anstelle der intakten Zellverbände auf. Die Degeneration des Amnionepithels — sollte sie auch nur stellenweise vorkommen — veranlaßt zur Frage, ob die Funktion des Amnions in diesem Zeitpunkt erlischt und von wem sie dann übernommen wird. Auffallend ist, daß die Amnionflüssigkeit bei manchen Feten bis auf einen kleinen Rest auf der Bauchseite reduziert war und daß über der gesamten dorsalen Region von Kopf bis Steiß und über den Extremitäten das Amnion der embryonalen behaarten Haut eng auflag. Der Rest der Amnionflüssigkeit war viscös und gelblich verfärbt. Der p_H betrug 8,6 gegenüber dem der teilweise viel reichhaltigeren Allantoisflüssigkeit von 8,2—8,0.

Hat das Amnion mit dem Fruchtwasser nur mechanische Bedeutung — Schutz des Feten vor äußerer Druckeinwirkung — dann erscheint eine Amnionfruchtwasserhülle am Ende der Tragzeit wegen der Existenz eines durch die Allantois gesicherten zweiten Flüssigkeitsmantels weniger wichtig. Frühe Stadien sind dagegen allseitig vom Amnionwasser umgeben.

Nach Mossman (1937) ist das Amnion weniger ein Schutzorgan als selbst des Schutzes bedürftig. Hierfür seien die verschiedenen Schutzhüllen bei den Sauropsiden, und bei den intrauterin sich entwickelnden Feten die maternen Gewebe verantwortlich.

Die Regelung von Stoffwechselbeziehungen zwischen Embryo und seinem flüssigen Medium (Bautzmann 1956, Petry 1955 und O. Stamm 1958) sind sicher als Hauptfunktionen des Amnions anzusehen. Bautzmann (1956) hat dies ausführlich behandelt. Insofern erscheint das Amnion schon als ein Schutzorgan. Dies gilt aber auch für mechanische Insulte (z. B. Stoßpufferwirkung, W. Preyer 1885).

Die Reduktion der Amnionflüssigkeit, sowie die regressiven Vorgänge im Amnionepithel bei der Katze fügen sich nicht ohne weiteres in das von den genannten Autoren gemachte Bild über die Funktion des Amnions. In der ersten Hälfte der Tragzeit sind die Verhältnisse zwar gleich, sie ändern sich jedoch an deren Ende. Es erscheint noch durchaus unklar, ob bei *allen* Amnioten die allgemein angenommene stoffwechselphysiologische Leistung des Amnions bis zum Ende der Tragzeit bestehenbleibt. In situ der Allantoishöhle applizierte Vitalfarbstoffe (Neutralrot und Trypanblau) werden vom Allantoisepithel, dem Allanto-Amnionbindegewebe, jedoch kaum vom Amnionepithel angenommen und färben aber die Epidermis und deren Bindegewebszellen des fetalen Coriums. Bei Species mit großen, das Amnion allseitig umschließenden Allantoisblasen vermag das Allantoisepithel die Schutzfunktion eventuell degenerierender Amnien zu übernehmen. Eine systematische vergleichende Untersuchung über die morphologischen Verhältnisse am Amnion ausgereifter Früchte solcher Species, die

über ein Allanto-Amnion verfügen, ist erforderlich. Dabei müßten auch die Flüssigkeiten der Amnion- und Allantoisblasen nach Menge und Gehalt in größeren Reihen untersucht werden.

In diesem Zusammenhang muß noch auf Beobachtungen über die unterschiedliche Menge der Amnionflüssigkeiten bei verschiedenen Arten aufmerksam gemacht werden: Tiere, die mit einem ausgereiften Integument (vollkommener Behaarung und Befiederung) zur Welt kommen, sind — soweit wir dies bis jetzt beobachten konnten — von einem nahezu „trockenen", dicht der Embryonaloberfläche aufliegenden Amnion bedeckt, das seinerseits mit dem inneren Teil der Allantois verwachsen ist. Von einer den fetalen Körper umspülenden Amnionflüssigkeit kann nur am ventralen Abschnitt gesprochen werden. Diese befindet sich in reduzierter Menge an der Bauchseite, kann aber bei Komprimierung an jeden Körperteil verlagert werden, so daß bei Geburt der vorangetriebene Teil zwar mit einer mit Flüssigkeit gefüllten Amnionkappe bedeckt ist, deren Flüssigkeitsmenge jedoch nicht ausreicht, die gesamte fetale Körperoberfläche zu bedecken. Dies täuscht in der Praxis die Existenz einer größeren Menge Amnionwassers vor. Gleichzeitig wird vom tierärztlichen Geburtshelfer beobachtet, daß zuerst eine dickere viscöse Flüssigkeit entleert wird, obwohl nach der topographischen Situation die dünnflüssigere Allantoisflüssigkeit zuerst erwartet werden müßte. Umgibt die Allantois andererseits wie z.B. beim Rind das Amnion nicht vollständig, dann können die mehr nebeneinanderliegenden Blasen gleichzeitig zum Vorschein kommen. Die Auspressung der Frucht vollzieht sich häufig so, daß der vorangehende Teil mit der Amnionkappe eng an das vorliegende Allanto-Chorion gepreßt und die Allantoisflüssigkeit in den hinteren Abschnitt abgedrängt wird. Der vordere, nicht an der Uteruswand anhaftende Teil des Allanto-Chorions reißt sehr leicht und der sofort nachdrängende Fet drückt die gefüllte Amnionkuppe wie ein Kugelventil vor. Die sich retrahierende Uteruswand schnürt sich eng um den Embryo, womit die Ventilwirkung verstärkt wird. Dieser Vorgang läßt sich bei jedem isolierten Uterussegment (bei der Katze) reproduzieren und macht sich dann unangenehm bemerkbar, wenn man die zur Gewinnung eines totalen uneröffneten Allanto-Chorionsackes noch kontraktilen Uteri liegend oder in der Hand haltend eröffnet.

Gegenüber behaarten Katzen- und Hundeembryonen sind z.B. die nackten Feten der Ratte auch am Ende der Tragzeit mit einer reichhaltigen Amnionflüssigkeit umgeben.

Inwieweit Zusammenhänge zwischen der Reduktion der Amnionflüssigkeit, einer eventuellen Degeneration des Amnionepithels, dem Vorhandensein eines zweiten Flüssigkeitsmantels (Allantois) einerseits und der Ausreifung des Integumentes mit Anhangsgebilden andererseits besteht, müßte ebenfalls anhand eines größeren vergleichenden Materials geprüft werden.

Embryonalformen mit einem von der Allantois vollkommen umwachsenen Amnion sind hinsichtlich der Quantität und Qualität des Amnionwassers von den Wechselbeziehungen beider Hüllen abhängig. In solchen Fällen ist die Reduktion der Amnionfunktion auch ohne weiteres denkbar. Bei der Katze wird letztere am Ende der Tragzeit von der Allantois, wahrscheinlich nach der Integumentreifung und der damit erreichten Schutzfunktion der fetalen Haut übernommen. Demnach dürften Aussagen über Amnionfunktionen z.B. auf Grund von Versuchen mit injizierten Vitalfarbstoffen nur auf die betreffenden Species und hier auch nur auf die während der Beobachtung vorliegende Entwicklungsphase bezogen werden.

2. Allantois. In Übereinstimmung mit seiner am Ende der Tragzeit im Vergleich zum Amnion für wesentlicher gehaltenen Kontrollfunktion zwischen maternem Gewebe und fetaler Oberfläche erweist sich das Allantoisepithel in Form und cytologischen Besonderheiten als ein hochaktives Epithel. Dies trifft für alle Allantoisabschnitte über Chorion, Amnion, Placenta, sowie dem freien, kleinen Abschnitt an der Bauchseite zu. Es entsteht eine bisher noch nicht beobachtete Sonderform eines Epithels, das nicht mehr mit der klassischen

Definition des Deckepithels charakterisiert werden kann. Die Sonderstellung im physiologischen Stoffaustausch ergibt sich zunächst durch die Mittlerrolle der Allantois zwischen mütterlichen Geweben und Chorion sowie Amnion und Embryo. Hieraus resultieren auch jeweils charakteristische Verbindungen im Allanto-Amnion- und Allanto-Chorionraum.

Eingeschaltet in das Stoffwechselgeschehen erfüllt das Allantoisepithel sekretorische und resorptive Leistungen. Diese finden ihren morphologischen Niederschlag. Die Oberfläche des Epithels wird durch zahllose feine und grobe

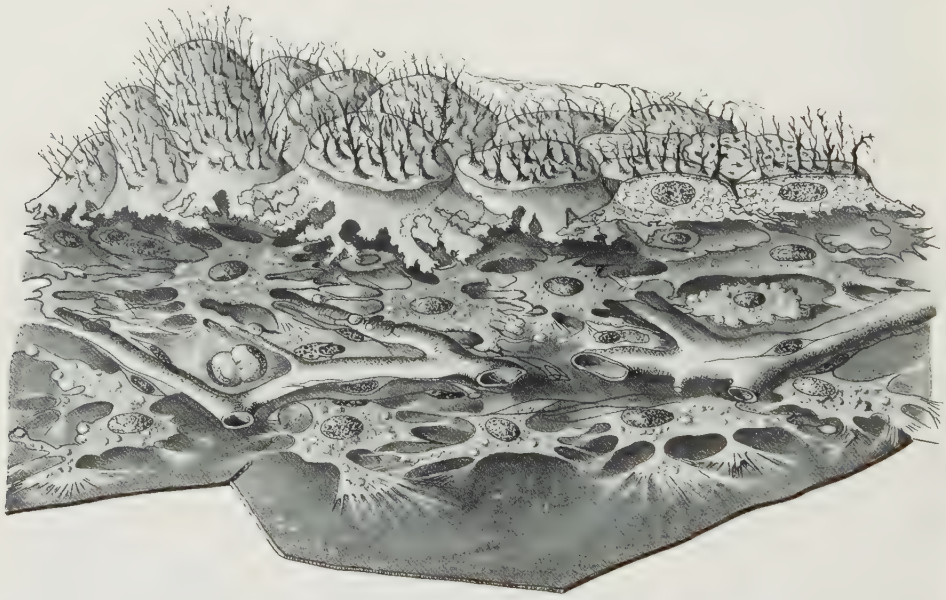


Abb. 45. Halbschematische räumliche Darstellung des Allanto-Amnions. Oben Allantoisepithel mit Sekretfortsätzen und basalen Füßen. Unten Amnionepithel (vgl. Größenunterschiede zwischen beiden Epithelien). In der Mitte verschiedene Lagen flächenhaft ausgebreiteter Bindegewebszellen mit Blutgefäßen (gez. Petry)

Sekretvortreibungen profiliert, die in ihrer Entstehung bis zur wahrscheinlichen Auflösung an ihren Enden in den verschiedensten dicht nebeneinanderstehenden Phasen verfolgt werden können (Abb. 10—13). Daß diese im Querschnittsbild cilienartigen Sekretfortsätze durch Broueff und Ebert (1864) sowie Mandl (1905) und Schaffer (1927) irrtümlicherweise dem Amnion zugeschrieben wurden, wird durch die Degeneration des im Schnittbild kaum wahrnehmbaren Amnionepithels sehr wahrscheinlich. Ohne das Totalpräparat wären solche Befunde nie zu erheben.

Der besonders starke Glykogengehalt und der Nachweis von Lipoiden im Plasma dürften weitere Beweise außerordentlicher Stoffwechselaktivität sein. Als morphologisches Zeichen resorptiver Fähigkeiten sind die basalen, filigranartig entfalteten Plasmafortsätze zu werten, mit denen sich Nachbarzellen gegenseitig unterschieben. Die geschilderten morphologischen Einzelheiten geben der Allantoiszelle (Katze) ein besonderes Gepräge. Sie sind in der schematischen Zeichnung (Abb. 45) mit denen des darunterliegenden Bindegewebes und des Amnionepithels für das Allanto-Amnion zusammengefaßt. Auf der Höhe seiner

sekretorischen Funktion erscheint das Allantoisepithel gefiedert. Echte Fiederungen von Epithelien wurden bisher nur auf der Nickhautinnenfläche der Vögel beobachtet (W. Kolmer 1923).

Offenbar findet während der Tragzeit ein Funktionswechsel zwischen Amnion und Allantois statt. Als weiterer Beweis hierfür kann neben den Beobachtungen am Amnionepithel sowie der Abnahme der Amnionflüssigkeit die Zunahme der Sekretfortsätze gegen die Mitte und das Ende der Entwicklung angesehen werden. Die chemische Zusammensetzung der Sekretfäden, der auslösende Reiz, der zu ihrer Bildung führt, sowie ihre eigentliche Funktion sind noch unklar. Die positive PAS-Reaktion deutet auf das Vorhandensein von Schleimstoffen hin. Die Vermutung, daß es sich um Trägerstoffe für im Inneren der Allantoisblase gespeicherte Choriogonadotropine handelt (Petry 1960), hat sich auf Grund des negativen Krötentestes, sowie der Aschheim-Zondekschen Reaktion vorläufig nicht bestätigt. Möglicherweise ist der Gehalt an Wirkstoffen so gering, daß ohne Anreicherung eine positive Reaktion nicht erfolgt. Weitere Nachprüfungen sind vorgesehen. Ebenso sind Versuche über die Stoffwechseltätigkeit des Allantoisepithels im Zusammenhang mit elektronenoptischen Untersuchungen geplant.

3. Chorion. Die dritte Epithelfläche, das Chorion, tritt wegen ihres unmittelbaren Kontaktes zum mütterlichen Gewebe an entscheidende Stelle. Wenn die paraplacentaren fetomaternen Gewebsflächen bestimmte Aufgaben erfüllen, die letztlich darin bestehen, neben der Placenta einen Teil des wechselseitigen Verkehrs zwischen fetalen und mütterlichen Teilen unter Kontrolle zu nehmen, dann muß das Chorion an erster Stelle genannt werden, wie es die vorausgegangenen Untersuchungen von E. C. Amoroso (1952), N. Bjorkman (1957), Dempsey und Wislocki (1946, 1956), G. Heinricus (1914), A. Janssen (1933) und H. Strahl (1890) bereits bewiesen. Es sei hervorgehoben, daß hierbei die gesamte Fläche des am Uterus anliegenden Chorions Anteil hat.

Gewiß wird die paraplacentare epithelio-choriale Anlagerungsfläche nicht die Rolle spielen wie die Placenta selbst. Es ist jedoch zu berücksichtigen, daß es sich um eine sehr ausgedehnte, innige feto-materne Kontaktfläche handelt, der allgemein und auch speziell bei der Katze eine gewisse Stoffwechseltätigkeit nicht abgesprochen werden kann. Wenn epithelio-choriale Flächen bei anderen Species als „massige Placenten" (Portmann 1959) bezeichnet werden, dann wird eine gleiche gewebliche Zuordnung mit histologisch und histochemisch nachgewiesener Stoffwechselleistung neben einer ausgebildeten Placenta ohne Bedenken als Paraplacenta in voller Bedeutung des Wortes aufgefaßt werden dürfen. Sicher kann die massige epitheliochoriale Schweineplacenta beispielsweise nicht in allen histologischen Feinheiten (Zotten, Kuppen und Spitzen, W. Schauder 1941, G. Töndury 1944) der epithelio-chorialen paraplacentaren Fläche der Katze gleichgesetzt werden. Die gewaltige Kapillarisierung des subepithelialen paraplacentaren Chorions bei der Katze und seine differenzierten Zellen lassen jedoch Vergleiche zu. Es sollte bei der Nomenklaturfrage auf die mit Sicherheit bestehende, wahrscheinlich sogar unentbehrliche Sonderfunktion neben der Hauptplacenta angelegter fetomaterner Strukturen Rücksicht genommen werden. Die exakte Erforschung „paraplacentarer" fetomaterner Verbindungen scheint noch lange nicht abgeschlossen zu sein.

Funktionelle Deutungen des paraplacentaren Chorions können nur in Zusammenhang mit den übrigen fetalen Membranen wie Allantois und Amnion, sowie deren Zwischenschichten unter gleichzeitiger Berücksichtigung der Beschaffenheit beider vorliegender Flüssigkeitsmäntel erfolgen. Die Feststellungen Starcks (1959), die Morphologie erlaube nur in den seltensten Fällen Schlüsse auf die Funktion und versage in sehr vielen Fällen z. B. in bezug auf die Stoffwechselfunktion völlig, erweisen sich gerade bei den Fetalmembranen als besonders bemerkenswert.

Im einzelnen bestätigten sich die Befunde von Dempsey und Wislocki (1946, 1956) auch für den peripheren Anteil des paraplacentaren Chorions. Hinsichtlich der Phagocytose von Erythrocyten in den Chorionepithelien wurde festgestellt, daß diese auch in Vakuolen deponiert werden können. Über die Bedeutung der sich nach basal erweiternden und auf der Unterseite der Chorionepithelien in ein Kanälchennetz übergehenden Zellzwischenräume kann ohne exakte Stoffwechselversuche mit morphologisch nachweisbaren Substraten vorläufig nichts ausgesagt werden.

4. Das Bindegewebe. Die Bindegewebsräume zwischen Allanto-Amnion und Chorion erweisen sich als vorzügliche Objekte für Studien an Bindegewebszellen. Die dünnen totalen Häutchenpräparate geben einen Überblick über den tatsächlich vorhandenen Zellbestand. Die vorwiegend flächenhafte Ausbreitung der Zellen vermittelt ein wahres Bild aller ihrer Einzelteile, sowie der Formübergänge und Reaktionen. Im Unterschied zu präparierten Häutchen aus flächenhaft organisierten Geweben überblicken wir hier beim totalen Präparat alle zellulären und interzellulären Elemente in einem intakt gebliebenen Gewebsraum. Die Vielfalt nebeneinander auftretender, innerhalb der jeweiligen relativ kurzen Tragzeit aus ihrer Mutterzelle entstandener Bindegewebszellen reizt, die Probleme der Umwandlungsfähigkeit von Fibrocyten und Histiocyten, sowie die über die Entstehung von Mastzellen u.a. erneut anzugehen. In diesem Zusammenhang wurden Reihen von Fibrocyten und Histiocyten auf Grund der Form und einiger spezieller Färbungen zusammengestellt. Beide von der Mesenchymzelle ausgehenden Reihen entwickeln einander ähnelnde Nebenformen, die schwer unterschieden werden können. Alfejew (1924) und Maximow (1927) haben dieses Verhalten für viele ruhende Histiocyten in den späteren embryonalen Stadien besonders hervorgehoben. Ob der traditionelle Test zur Unterscheidung von Histiocyten und Fibrocyten durch vitale Farbstoffspeicherungen ersterer immer zutrifft, sollte erneut geprüft werden. Ebenso wie aus der reinen Form keine endgültige Aussage über die Identität zu der einen oder anderen Zellart gemacht werden kann, sind Vitalfärbungen von Histiocyten auch nur der Ausdruck ihrer momentanen Bereitschaft, die Farbstoffe anzunehmen. Es ist noch nicht bewiesen, daß Histiocyten in jeder Stoffwechsellage und in jedem Milieu stereotyp speichern. Wenn man annimmt, daß Histiocyten sich in Fibrocyten, vielleicht über die „ruhende" Wanderzellform Maximows umwandeln können, so muß sich auch ihre Speicherungsfähigkeit auf Grund noch unbekannter intraplasmatischer Veränderungen verringern. Eine solche Zelle wird dann weniger oder gar keine Vitalfarbstoffe mehr annehmen, obwohl man der Form nach noch von einem Histiocyten sprechen müßte. Umgekehrt ist es bei der Übergangsform von Mesenchymzellen oder Fibrocyten in Histiocyten. Es scheint vermessen, ange-

sichts der ungeheuren Zahl von Untersuchungen und Befunden[1] an das Dogma einer beinahe allzu weit vorgetriebenen Klassifizierung von Bindegewebszellen mit einer Frage überhaupt heranzutreten. Daß der Histiocyt eine besondere Funktionsform des Fibrocyten ist (Bargmann 1959) erscheint wahrscheinlicher als seine Einordnung zu einer besonderen Zellklasse. Mit der Zusammenstellung einer Formenreihe der Histiocyten (s. S. 375), ausgehend von kleinen lymphocytenähnlichen Rundzellen, soll auch nur eine der sicher verschiedenen Möglichkeiten ihrer Histogenese angedeutet werden.

Jeder Zelltyp der Formenreihe (Abb. 35) tritt wieder in Varianten auf, die sich durch die Verschiedenheit des Plasmas unterscheiden. Die Granula können fein- und grobkörnig, die Vakuolen kaum erkennbar oder so groß sein, daß das Plasma „schaumig" erscheint. Die Befunde Bautzmanns und Schröders (1955) über den Lipoidgehalt mancher größerer Körnchen werden bestätigt, ebenso die gruppenweise Zusammenlagerung kleiner Histiocyten, mit der Einschränkung, daß beim vorliegenden Untersuchungsgut Mitosen dieser kleinen Zellen (siehe Abb. 35a) gefunden wurden. Der Ausdruck „Ruheform" der Wanderzellen erscheint etwas unglücklich und führt bei der Beurteilung ihrer Funktion zu ähnlichen Mißverständnissen wie bei früheren Einteilungen der Kerne in „Ruhekern" und „Arbeitskern", wobei unter letzterem der sich teilende Kern gemeint war. Sowohl innerhalb der Gruppe der „Ruheform" als auch der „Wanderform" der Makrophagen lassen sich Unterschiede in der Färbbarkeit, der Speicherung von Vitalfarbstoffen, sowie in der Beschaffenheit von Granula und der Vakuolen einschließlich deren Inhalt feststellen, wobei es vorkommt, daß sich beide Zellklassen ähneln, obwohl ihre äußeren Formen außerordentlich divergieren. Es zeigt sich auch hier wieder, daß im Vergleich zu differenzierten Geweben die zellulären Elemente des Bindegewebes sich viel weniger in allzu starre Formenklassen einengen lassen. Angesichts der so verschiedenen, gleichzeitig nebeneinander vorkommenden Bindegewebszellen fragt es sich, ob eine definitive Differenzierungsform dieser Zellen in dem Maße wie z. B. bei der Muskulatur oder dem Nervengewebe überhaupt möglich ist. Das Beispiel neu entstandener Gefäßwände (Petry und Heberer 1958, Petry 1958) aus Fibrocyten, die durch die Maschen zellfrei eingepflanzter Kunststoffröhren einwandern, demonstriert, daß streng klassifizierte Zellen sich in eine Stufenleiter verschiedenster Bindegewebszellen, sogar in Endothelzellen transformieren können.

Ähnliches gilt auch für die Entstehung der *Mastzellen*, über die jedoch einschränkend nur für das Beobachtungsgut in den fetalen Membranen der Katze Aussagen gemacht werden sollen. In Fortführung des von Bargmann (1959) ausgesprochenen Gedankens, die Histiocyten seien möglicherweise besondere Funktionsformen der Fibrocyten, sind die in den fetalen Membranen gefundenen Mastzellen möglicherweise auch als besondere Funktionsformen der Histiocyten aufzufassen. Die Mastzellen lassen sich als eine Seitenkette in die Formenreihe der Histiocyten einordnen. In der Reihe kleiner Histiocyten erhalten verschiedene Zellen metachromatisch sich anfärbende, zunächst dichtstehende Granula, die sich bei vergrößerndem Plasma weiter voneinander entfernen. Die bisher in Zweifel gezogene extrazelluläre Lage von Mastzellengranula kommt vor. Eine

[1] Siehe Arbeiten von W. v. Möllendorff und seiner Schule, auf die im Rahmen der vorliegenden Arbeit nicht eingegangen werden kann.

künstliche Zerstörung des Mastzellenleibes in den intakten Räumen totaler Allanto-Amnionpräparate ist mit größter Sicherheit nicht der Fall. Ob die Beobachtung extrazellulärer Granula als „Sekretionsvorgang" (Petterson 1957) gedeutet werden kann, bleibt unbewiesen. Bestimmte Histiocytenformen besitzen Granula, die in Abstufungen metachromasieren. Im Inneren solcher Granula auftretende Aufhellungen führen schließlich zu kleinsten Vakuolen. Unterschiedliche Körnchengrößen und Auflösungsvorgänge in Mastzellengranula wurden schon von Lehner (1924) beschrieben. Daß die Mastzellen des Bindegewebes zum großen Stamm der Wanderzellen im allgemeinen gehören, wird vor allem auch durch ihre embryonale Histogenese bewiesen (Maximow 1927).

Der Vorgang der „Klasmacytose" (Ranvier 1890, 1900), der von Maximow (1927) als ein mit der (damaligen) Untersuchungstechnik zusammenhängendes Artefakt bezeichnet wurde, gewinnt erneut an Boden. Abschnürungen von Plasmateilchen werden an Fibrocyten (Abb. 33a) und Vorbereitungen zu wahrscheinlichen Abtrennungen in Abb. 37 gezeigt. Im letzteren Falle sind Plasmakugeln durch dünnste, nur vermittels Phasenkontrast noch darstellbare Plasmafädchen mit der Mutterzelle verbunden. Man findet sie aber auch in Massen ohne Verbindung mit letzteren. Teilweise färben sie sich schlecht an, so daß der Gedanke ihrer Auflösung in der Interzellularflüssigkeit und die Möglichkeit, daß sie als „Nahrungsmaterial" anderen Bindegewebszellen zugute kämen (Ranvier 1900) und hierdurch Stoffe zum weiteren Aufbau anderer Zellen abgeben und wieder verwendet würden und sich damit eine Art „apokriner Sekretion" vollziehe, gar nicht so hypothetisch erscheint.

Es ist ferner daran zu denken, daß sich auflösende Plasmateile Stoffe freigeben, die — wie das Beispiel der wachstumsfördernden „Gewebshormone" bei der Gewebezüchtung zeigt — das weitere Wachstum sich stetig vergrößernder fetaler Membranen und ihrer zellulären Anteile stimulieren.

Selbst multiple Abschnürungen von Plasmateilen ausgebreiteter Histiocyten und Fibrocyten führen zu keiner Schädigung der Mutterzelle. Ein Teil dieser Plasmateilchen enthält chromosomale mit Methylgrün-Pyronin positiv reagierende Substanzen. Weitere Erörterungen als der Hinweis darauf, daß von solchen kleinen, vielleicht als „Zwergzellen" zu bezeichnende Gebilde Übergänge bis zu den kleinen lymphocytenähnlichen Histiocyten gefunden werden (s. Abb. 39) sind vorläufig nicht am Platze, da es im fixierten Präparat keine Möglichkeiten der Orientierung über ihr weiteres Schicksal gibt.

Als eine cytologische Besonderheit erscheinen die aus Bindegewebszellen vorwiegend im Allanto-Amnionbindegewebe sich entwickelnden vielzelligen Cysten, über die im Schrifttum keine Parallelen feststellbar sind. Die Entwicklungsformen der Blutgefäße in den Embryonalhäuten, über die Beobachtungen bei anderen Species vorliegen, soll in anderem Zusammenhang besprochen werden. Die in der phylogenetischen Reihe feststellbare Identität sinusoider Kapillaren des Chorions (Petry 1959) bestätigt sich auch bei der Katze.

Zusammenfassung

Die Embryonalhüllen verschiedener Entwicklungsstadien der Katze wurden an totalen Häutchenpräparaten, sowie Flach- und Querschnitten auf ihre histotopographischen Besonderheiten untersucht. Sie gaben Anlaß zu allgemeinen cytologischen Betrachtungen.

1. Das Amnionepithel der Katze unterscheidet sich von dem bisher untersuchter Species durch seine außergewöhnliche Größe der Zellen, dem Vorkommen direkter Kernteilungen, die zur Mehrkernigkeit des Epithels führen.

2. Am Ende der Tragzeit degeneriert das Amnionepithel vielfach und ist stellenweise im Allanto-Amnionpräparat nicht mehr nachweisbar. Reste zugrunde gegangener Epithelien finden sich auf der Amnionseite des Allanto-Amnions teilweise in dichten Zusammenballungen.

3. Das gegenüber dem Amnionepithel teilweise um ein Vielfaches kleinere Allantoisepithel erweist sich als eine hochaktive Zellschicht, die einerseits besonders viel Glykogen speichert, andererseits eine eindeutige Sekretion zeigt.

4. Als Ausdruck dieser sekretorischen Tätigkeit werden die die Oberfläche des Allantoisepithels bedeckenden, entsprechend den jeweiligen Sekretionsstadien kleinen oder sehr großen sich verzweigenden Fortsätze angesehen. Diese entspringen in feinen Vortreibungen des apikalen Cytoplasmas und zeigen positive PAS-Reaktionen. Sie geben der Allantoiszelle häufig ein gefiedertes Aussehen.

5. An der Basis des Allantoisepithels überlagern sich gelappte Cytoplasmafortsätze mit filigranartig konturierten Rändern mit denen benachbarter Zellen. Die Dynamik der Allantoiszelle wird diskutiert.

6. Die Zunahme der Sekretionstätigkeit des Allantoisepithels am Ende der Tragzeit und die gleichzeitige Degeneration des Amnionepithels sprechen für eine zunehmende funktionelle Bedeutung der Allantois in ihrer Mittlerrolle zwischen Chorion und Amnion.

7. Die Befunde am „paraplacentaren" Chorion früherer Autoren werden bestätigt. Sie sind für die gesamte Anlagerungsfläche des Chorions am Uterus charakteristisch, deren funktionelle Bedeutung dadurch am besten charakterisiert wird, daß man sie als Ganzes als paraplacentares Austauschorgan ansieht.

8. An Flachschnitten durch das Chorionepithel stellte sich an dessen Basis ein mit den von apikal nach basal an Weite zunehmenden Interzellularspalten zusammenhängendes Raumnetz dar, das seinerseits sich im subepithelialen Bindegewebsraum „eröffnet" (nur lichtmikroskopisch). Es ist als Ausdruck der Verzahnung der Bindegewebs-Epithelgrenze zu deuten.

9. Die Zwischenschichten zwischen Allantois, Amnion und Chorion der Katze besitzen kein gallertartiges Stratum intermedium. Im Allanto-Amnionraum entspricht das feine Fasergerüst dem anderer bisher untersuchter Species mit dem Unterschied, daß in der Mitte, besonders an der ventralen Seite, ein grobes Bindegewebsgerüst vorwiegend den Blutgefäßen zugeordnet erscheint. Im Allanto-Amnion werden Bindegewebsformationen beschrieben, die den Geflechten vegetativer Nervenplexus ähnlich sind. Im Zusammenhang mit der Rückbildung der Allantoisblutgefäße treten degenerierende kollagene Fasern auf.

10. Der Allanto-Chorionraum wird durch das sich hier ausbreitende sinusoide, mehr dem Chorion zugeordnete dichte Kapillarnetz charakterisiert, das in gleicher Form schon bei den Sauropsiden auftritt und als Kriterium einer stoffwechselaktiven fetalen Membran aufgefaßt wird. Bei der Katze speichert dieses Bindegewebe sehr viel Eisen.

11. Der zelluläre Bestand des Allanto-Amnion- bzw. Allanto-Chorionraumes kann nur auf Grund von totalen Häutchenpräparaten — über deren Technik eingangs diskutiert wird — vollkommen überblickt werden. Die im intakten

Raum der Präparate sich vorwiegend in der Fläche orientierenden Zellen bieten besonders gute Möglichkeiten zum Studium an Fibrocyten und Histiocyten.

12. Im speziellen werden Formenreihen beider Zellen beschrieben. Die bei der Katze in den Zwischenschichten vorkommenden Mastzellen werden als eine besondere Funktionsform der Histiocyten aufgefaßt. Fragen der Klassifizierung von Bindegewebszellen in fetalen Membranen und die Möglichkeit von Übergängen einer Zellsorte in die andere werden besprochen. Das Nebeneinander verschiedenster Zellformen, Plasmaabschnürungen ohne Zelldegenerationen, das Vorkommen unterschiedlicher Vakuolen und Granula, Übergangsformen intakter Plasmateilchen mit intakter chromosomaler Substanz („Zwergzellen") zu kleinen lymphocytenähnlichen Histiocyten sind als Ausdruck einer überaus lebhaften Stoffwechseltätigkeit und Wandlungsfähigkeit des Bindegewebes im speziellen und im Hinblick auf Austauschvorgänge zwischen den einzelnen Membranen und der von ihnen umschlossenen Flüssigkeitsräume im allgemeinen aufzufassen.

Literatur

Alfejew, S.: Die embryonale Histogenese der Zellformen des lockeren Bindegewebes der Säugetiere. Folia haemat. **30**, 111 (1924).

Amoroso, E. C.: Placentation. In: Marshalls Physiology of reproduction, 3rd edit., p. 127—311. New York 1952.

Bargmann, W.: Histologie und mikroskopische Anatomie des Menschen. 3. Aufl. Stuttgart: Georg Thieme 1959.

Bautzmann, H.: Fruchthüllenmotorik und Embryokinese, ihre Natur und ihre Bedeutung für eine physiologische Embryonalentwicklung bei Tier und Mensch. Arch. Gynäk. **187**, 519—545 (1956).

—, u. Ch. Hertenstein: Zur Histogenese und Histologie des menschlichen fetalen und Neugeborenen-Amnion. Z. Zellforsch. **45**, 589—611 (1957).

—, u. W. Schmidt: Vergleichende elektronenmikroskopische Untersuchungen am Amnion von Sauropsiden und Mammaliern (Huhn, Katze, Mensch). Z. Zellforsch. **51**, 571—588 (1960).

—, u. R. Schröder: Studien zur funktionellen Histologie und Histogenese des Amnions beim Hühnchen und beim Menschen. Z. Anat. Entwickl.-Gesch. **117**, 166—214 (1953).

— — Über Vorkommen und Bedeutung von „Hofbauerzellen" außerhalb der Placenta. Arch. Gynäk. **187**, 65—76 (1955).

Benninghoff, A.: Beobachtungen über Umformungen der Bindegewebszellen. Arch. mikr. Anat. **99**, 571—605 (1923).

Björkman, N.: Histological study of the foetal-maternal relationship in the paraplacenta of the cat. Acta morph. neerl.-scand. **1**, Nr 3, 203—208 (1957).

Broueff u. Eberth: Zur Kenntnis der Epithelien. Würzburg. naturwiss. Z. **5**, 34 (1864).

Bucher, O.: Zur Entstehung zweikerniger Zellen in Bindegewebskulturen. Z. mikr.-anat. Forsch. **64**, 174—191 (1958).

— Die Amitose der tierischen und menschlichen Zelle. Protoplasmatologia 6 E, 1, 1—559 (1959).

Dempsey, E. W., and G. B. Wislocki: Electron microscopic observations on the placenta of the cat. J. biophys. biochem. Cytol. **2**, 743—754 (1956).

Feyrter, F.: Über die Pathologie der vegetativen nervösen Peripherie und ihrer ganglionären Regulationsstätten. Wien: Wilhelm Maudrich 1951.

— Über den zelligen Bestand des Stroma der menschlichen Corpusmucosa. Arch. Gynäk. **190**, 47—82 (1957).

Geittler, L.: Endomitose und endomitotische Poliploidisierung. Protoplasmatologia (6, c) (1953).

Heinricus, G.: Über die Embryotrophe der Raubtiere (Hund, Fuchs, Katze) in morphologischer Hinsicht. Anat. Hefte **50**, 115—192 (1914).

Janssen, A.: Über die Placenta und Paraplacenta bei der Katze. Diss. Med.-Vet., Hannover 1933.

Lehner, J.: Das Mastzellenproblem und die Metachromasiefrage. Ergebn. Anat. Entwickl.-Gesch. **25**, 67—184 (1924).
Linzbach, A. J.: Vergleichende phasenmikroskopische Untersuchungen am Deckepithel der Leberkapsel und am Aortenendothel. Z. Zellforsch. **37**, 554—572 (1952).
Lipp, W.: Die frühe Entwicklung der Architektur des Leberparenchyms beim Meerschweinchen (Cavia cobaya). Vorstudie zur Untersuchung der menschlichen Leberentwicklung. Z. mikr.-anat. Forsch. **58**, 289—319 (1952).
— Die frühe Strukturentwicklung des Leberparenchyms beim Kaninchen. Z. mikr.-anat. Forsch. **59**, 161—186 (1952).
Mandl, L.: Histologische Untersuchungen über die sekretorische Tätigkeit des Amnionepithels. Z. Geburtsh. Gynäk. **54**, 427—447 (1905); **58**, 249—257 (1906).
Maximow, A.: Über die Amitose in den embryonalen Geweben bei Säugetieren. Anat. Anz. **33**, 89—98 (1908).
— Bindegewebe und blutbildende Gewebe. In Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen, Bd. II/1. Berlin: Springer 1927.
Petry, G.: Untersuchungen über den Bau der menschlichen Eihüllen. Verh. der Anat. Ges., 51. Verslg, Mainz, S. 140—144, 1953.
— Studien über die morphologischen Grundlagen des Blasensprunges. Zbl. Gynäk. **76**, 655—675 (1954).
— Über die Struktur der menschlichen Eihäute. Congr. Internat. de Gynècol. et d'Obstetrique, Genève, 1954.
— Vergleichende Studien am Dottersack. Verh. der Anat. Ges., 53. Verslg, Stockholm, S. 305—315, 1956.
— Untersuchungen an neugebildeten Gefäßwänden bei alloplastischem Aortenersatz. Verh. der Anat. Ges., 54. Verslg, Freiburg, S. 113—121, 1957.
— Über den Bau und die Funktion der Embryonalhüllen. Vortr. Med. Ges. Marburg. Ref. Klin. Wschr. **38**, 463—464 (1960).
— Über eine besondere Funktionsform des Epithels. Naturwissenschaften **47** (1960).
— Vergleichende morphologische Untersuchungen an der Allantois. Verh. Anat. Ges., 56. Verslg, Zürich, 1959.
—, u. K. Damminger: Untersuchungen über den Bau des menschlichen Amnions. Z. Zellforsch. **44**, 225—262 (1955/56).
—, u. G. Heberer: Die Neubildung der Gefäßwand auf der Grundlage synthetischer Arterienprothesen. Langenbecks Arch. klin. Chir. **286**, 249—290 (1957).
—, u. S. Zuleger: Vergleichende Studie über den Bau der Eihüllen der Ratte. Z. Zellforsch. **47**, 683—712 (1958).
Petterson, T.: Beobachtungen an Mastzellen bei Vitalfärbung. Verh. anat. Ges., Erg.-H. z. **103**, 77—82 (1957).
Portmann, A.: Einführung in die vergleichende Morphologie der Wirbeltiere, 2. Aufl. Basel u. Stuttgart: Benno Schwabe & Co. 1959.
Preyer, W.: Spezielle Physiologie des Embryo. Leipzig: Theodor Grieben 1885.
Ranvier, L.: Zit. von Maximow, 1927, s. dort.
Schauder, W.: Über das Uterusepithel und den Trophoblasten der Placenta des Schweines. Tierärztl. Rdsch. **47** (1941).
Sinapius, D.: Über das Endothel der Venen. Z. Zellforsch. **47**, 560—630 (1958).
Stamm, O.: Ein Beitrag zur funktionellen Morphologie der Eihäute. Z. Geburtsh. **18**, 310—315 (1958).
Strahl, H.: Die histologischen Veränderungen der Uterusepithelien in der Raubtierplacenta. Arch. Anat. u. Physiol. **14**, 117—134 (1890).
Töndury, G.: Zum Feinbau des Chorionepithels der Schweineplacenta. Rev. suisse Zool. **51**, 15 (1944).
Thomas, J. A.: La transformation des cellules en histiocytes. Arch. exp. Zellforsch. **19**, 299 (1937).
Wassermann, F.: Wachstum und Vermehrung der lebendigen Masse. In Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen, Bd. I/2. Berlin: Springer 1929.
Wislocki, G. B., and E. W. Dempsey: Histochemical reactions in the placenta of the cat. Amer. J. Anat. **78**, 1—45 (1946).

Prof. Dr. med. G. Petry, Anatomisches Institut der Universität, Marburg a.d. Lahn, Robert Koch-Str. 6

Zeitschrift für Zellforschung 53, 394—410 (1961)

Aus dem Tieranatomischen Institut der Universität München (Vorstand: Prof. Dr. H. Grau)

DIE SENSIBLE INNERVATION DES LIPPEN-NASENBEREICHES VON RIND, SCHAF, ZIEGE, SCHWEIN, HUND UND KATZE

ZUR FRAGE DER ZUGEHÖRIGKEIT VON EMPFINDUNGSQUALITÄTEN ZU BESTIMMTEN REZEPTOREN DES TASTSINNES

Von

Peter Walter

Mit 11 Textabbildungen

(Eingegangen am 3. Oktober 1960)

Nachdem die feinere Innervation der Pferdelippe vor längerer Zeit untersucht worden war (Walter 1956), wurden in den vergangenen Jahren systematisch-vergleichende Untersuchungen über die Innervation der Haut im Lippen-Nasenbereich der übrigen Haustiere durchgeführt. Dies geschah einmal zur Klärung der hier etwa gegebenen besonderen Verhältnisse, zum anderen aber besonders im Hinblick auf die Schwierigkeiten, die sich einer funktionellen Deutung sensibler Rezeptoren, wo immer sie gefunden werden, entgegenstellen. Die haarlose Lippen-Nasenregion unserer Haustiere erscheint von vornherein als ein aufschlußreiches Objekt für Untersuchungen mit solcher Fragestellung. Angesichts der Verschiedenartigkeit der Lebensweise mit der besonderen Art der Umweltorientierung, Nahrungsauswahl und -aufnahme usw. darf man im Bereich der Mund-Nasenöffnung, die schon äußerlich bei den verschiedenen Tierarten verschieden gestaltet ist, auch Besonderheiten in der Art der Innervation erwarten, wenn solche Unterschiede mit morphologisch faßbaren Eigentümlichkeiten auch in der Innervation einhergehen. In der vorliegenden Arbeit wird über Beobachtungen berichtet, die am Lippen-Nasenbereich einer Reihe von Haussäugetieren gemacht wurden.

Material und Methodik

Zur Untersuchung gelangten Hautstückchen aus allen Abschnitten des Lippen-Nasenbereiches von der Medianlinie bis hinter den Lippenwinkel. Die Hautfelder der Nasenöffnungen wurden jeweils von der Medianlinie (Philtrum) bis zur lateralen Kante entnommen und in der gleichen Folge parallel und senkrecht zur Mittellinie durchgehend geschnitten. Fixierung: je nach Darstellungsmethode in wäßriger Formalinlösung 1:10 bis 1:25. In erster Linie wurden Silberimprägnationen durchgeführt. Die Silberimprägnation von Paraffinschnitten nach Bodian wurde wegen ihrer weniger befriedigenden Ergebnisse nicht angewandt. Die besten Resultate wurden an Gefrierschnitten von 15 –25 μ Dicke erzielt. Zur Darstellung von Achsenzylindern und Neurofibrillen kamen mit gutem Erfolg die Methoden nach Bielschowsky-Gross mit den Modifikationen nach Feyrter und Schefthaler und Mayet zur Anwendung. Zur Markscheidendarstellung erwiesen sich die Methode nach Schröder und die Beobachtung im Fluoreszenzmikroskop bei UV-Anregung nach Färbung mit Brillantdianilgrün als günstig. Alle angewandten Methoden zeigten neben den rein nervösen Strukturen auch die übrigen Gewebsanteile in ausreichender Deutlichkeit. War dies ausnahmsweise nicht der Fall, so wurde im Anschluß an eine Versilberung mit den gebräuchlichen Zytoplasmafarbstoffen nachgefärbt.

Befunde

Bei den untersuchten Abschnitten der Körperoberfläche handelt es sich durchweg um modifizierte Hautstellen, wobei die Modifikation im wesentlichen in einem

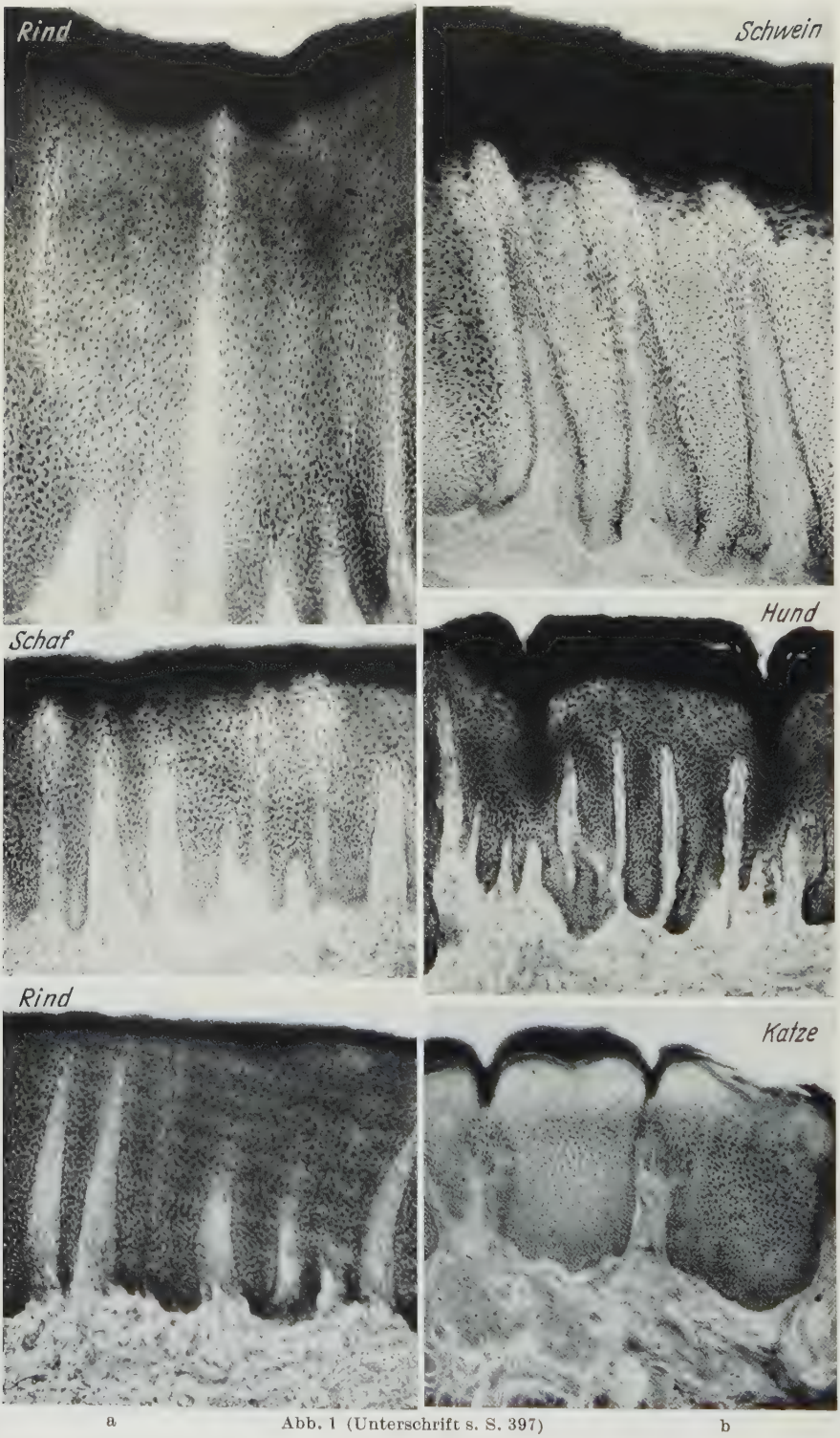
Verlust der Haare und zugehörigen Drüsen und einer damit einhergehenden Veränderung des Papillarkörpers und der aufsitzenden Epithelschichten besteht. Lediglich auf der Rüsselscheibe des Schweines tritt ein besonderer Haartyp in Form der bekannten Zwergsinushaare auf. Diese Feststellung ist deshalb von Bedeutung, weil die Untersuchungen erneut gezeigt haben, daß behaarte und unbehaarte Hautstellen sich hinsichtlich ihrer afferenten Innervation wesentlich unterscheiden. So finden sich in den behaarten Abschnitten sensible Rezeptoren ausschließlich in Form besonders gestalteter Terminalfasern in der äußeren Wurzelscheide der Haare. Nur ausnahmsweise treten unmittelbar an der Grenze zwischen behaarter und unbehaarter Haut andere Rezeptoren noch im Bereich der letzten Haare auf. Im Regelfall jedoch ändert sich der Innervationstyp unmittelbar an der genannten Grenze. Dies erklärt, daß sich für den beim Pferd durchweg behaarten Bereich der Mund-Nasenöffnung außer den Nerven in der Wurzelscheide von Haaren und Sinushaaren keine besonders gestalteten Rezeptoren auffinden lassen. Lediglich am Übergang der behaarten äußeren Haut in die kutane Schleimhaut der Lippenkante habe ich neben intraepithelialen Fasern vereinzelt Geflechte und Knäuelbildungen nachweisen können. Über diese Befunde wurde bereits berichtet (Walter 1956).

Bei den im allgemeinen völlig haarlosen Abschnitten des Mund-Nasenbereiches bildet neben den Einhufern (s. oben) allein die Rüsselscheibe des Schweines infolge des zwar regelmäßigen, aber verstreuten Auftretens sog. Zwergsinushaare eine Ausnahme. Die Versorgung dieser Haare mit sensiblen Nerven stimmt in ihrer Art grundsätzlich mit den für das Pferd geschilderten Verhältnissen überein.

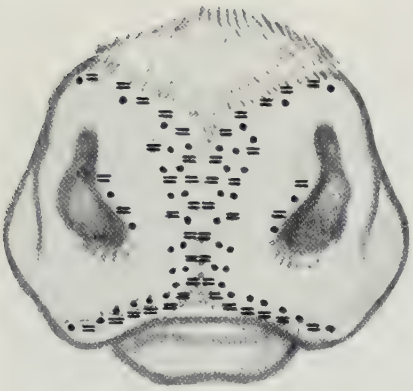
Daneben finden sich in den verhältnismäßig großen haarlosen Zwischenräumen verschiedene Arten sensibler Nervenendigungen, wie sie bei den übrigen Haustieren ausschließlich auftreten. Dabei kann grundsätzlich zwischen *freien Endigungen* und *Endkörperchen* unterschieden werden. Die sog. freien Endigungen finden sich sowohl in der Epidermis als auch im unterlagerten Bindegewebe. Endkörperchen hingegen kamen ausschließlich in Korium und Subkutis vor, wobei ich die intraepithelial gelegenen und als Endkörperchen beschriebenen Tastmenisken (Merkelsche Körperchen) nicht als echte Körperchen werten möchte, wie später noch zu begründen ist.

Die morphologisch einfachste Art sensibler Terminalfasern tritt in Form der bei allen genannten Haustierarten vorkommenden intraepithelialen Endigungen auf. Sie unterscheiden sich bei den Wiederkäuern nur in der Dichte ihres Auftretens. Während sie beim Rind in ungeheuer großer Zahl vorkommen, sind sie bei der Ziege und vor allem beim Schaf weit weniger zahlreich. In ihren morphologischen Eigentümlichkeiten jedoch stimmen sie durchaus überein.

Bei den genannten Tierarten zeigt der Papillarkörper eine auffallende Höhe (Abb. 1a). Die schlanken, dicht stehenden Koriumpapillen streben ohne nennenswerte Brückenbildung weit in die aufgelagerten Epidermisschichten und wölben sich vielfach mit ihren Endkegeln bis in das Stratum superficiale vor. Die zwischen die Papillen eingesenkten Epithelzapfen bestehen aus einer großen Zahl von Zellschichten, d.h. die Epidermisdecke ist hier besonders stark. Hieraus dürfte sich die Tatsache erklären, daß die intraepithelialen Fasern bei diesen Tierarten vorzugsweise erst nahe der Spitze einer Koriumpapille in das Epithel übertreten. Nur ausnahmsweise verlassen sie das Bindegewebslager an der Papillenbasis und treten

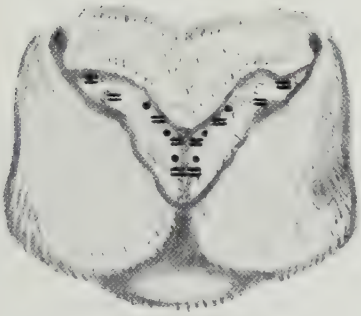


a Abb. 1 (Unterschrift s. S. 397) b



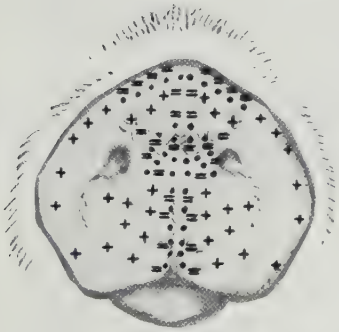
Rind

Pferd

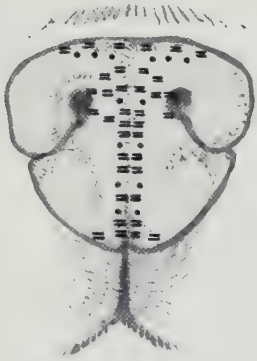


Schaf

Ziege



Schwein



Hund

Katze

Abb. 2. Schematische Darstellung über das gehäufte Vorkommen sensibler Rezeptoren im Bereich der Lippen-Nasen-Gegend der Haussäugetiere. + Haare mit sensibler Innervation; • sensible Endkörperchen; = freie sensible Endigungen

Abb. 1. a Vergleichende Darstellung des Papillarkörpers aus der Mitte der Lippen-Nasen-Region von Rind, Schaf und Ziege (unterste linke Teilfigur wurde versehentlich mit „Rind" bezeichnet). Bielschowsky-Gros, Obj. 10; OK 6. b Vergleichende Darstellung des Papillarkörpers aus der Mitte der Lippen-Nasen-Region von Schwein, Hund und Katze. Bielschowsky-Gros, Obj. 10; OK 6

von dort aus in die Epithelzapfen ein. Die Fasern durchziehen dann in unregelmäßig zickzackförmigem Verlauf die tiefen Schichten des Epithels, um vor der

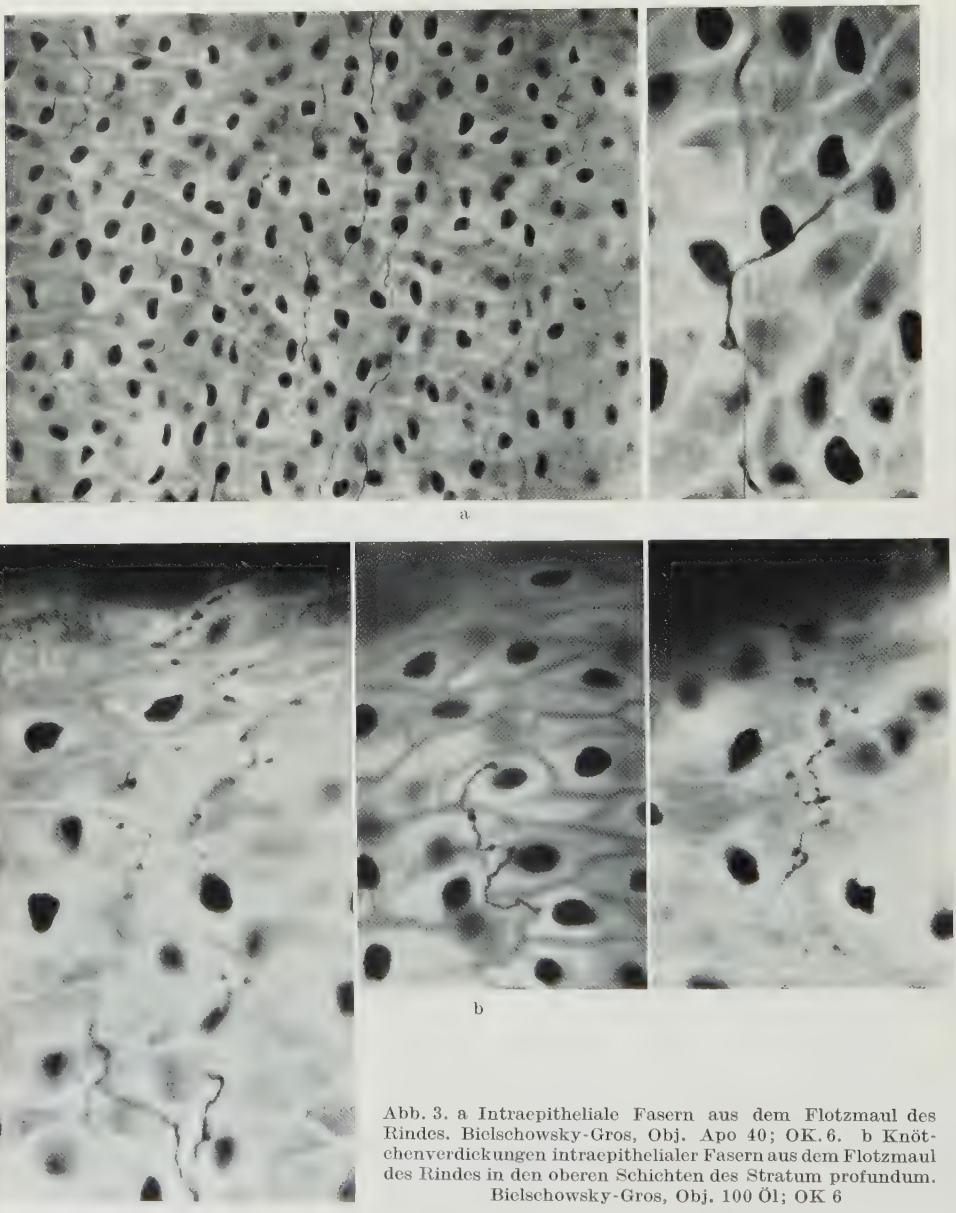


Abb. 3. a Intraepitheliale Fasern aus dem Flotzmaul des Rindes. Bielschowsky-Gros, Obj. Apo 40; OK. 6. b Knötchenverdickungen intraepithelialer Fasern aus dem Flotzmaul des Rindes in den oberen Schichten des Stratum profundum. Bielschowsky-Gros, Obj. 100 Öl; OK 6

Grenze zum Stratum superficiale zu enden. Sie liegen somit nur in den lebensfähigen Epithelschichten. Gabelförmige Verzweigungen sind häufig. Die als besondere Endigungsweisen dargestellten Knopf-, Ring- und Ösenbildungen an den Faserenden (KADANOFF 1924) scheinen mir eher Ausdruck einer physiologischen Degeneration zu sein als eine besondere Rezeptorbildung. Während ihres Verlaufes

innerhalb des Epithels scheinen die Fasern nicht mehr von einer eigenen Scheide umgeben zu sein. Das Fehlen eines Gliaäquivalentes in Begleitung einer Nervenfaser über so weite Strecken dürfte aber Ernährungs- und möglicherweise Funktionsschwierigkeiten des Achsenzylinders zur Folge haben, wenn diese Funktionen nicht von anderen Zellen übernommen werden können. Ob die Epithelzelle dazu, gleichgültig ob die Faser intra- oder interzellulär bleibt, in der Lage ist, sei dahingestellt. Auffallend ist, daß in den oberflächlichen Schichten des Stratum profundum, dort also, wo die ersten Kennzeichen des Epitheluntergan ges im Zuge der Verhornung deutlich werden, auch die genannten Erscheinungen an der Nervenfaser auftreten.

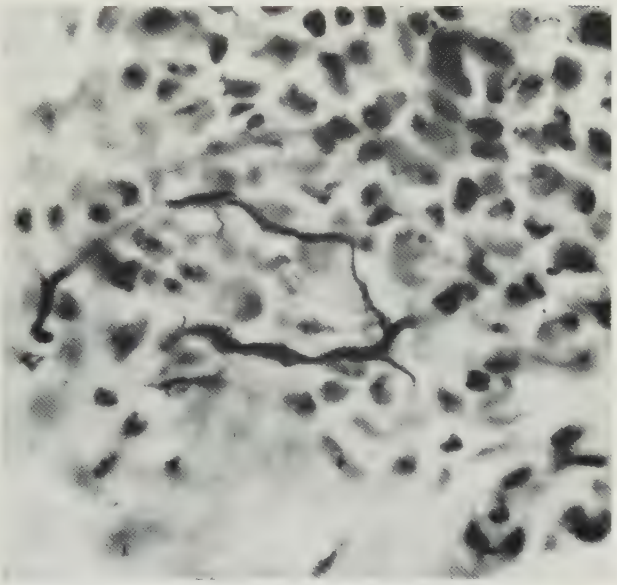


Abb. 4. Terminalgeflecht sensibler Fasern in den basalen Schichten des Epithels auf der Rüsselscheibe des Schweines. Bielschowsky-Gros, Obj. Apo 40; OK 6

In der geschilderten Form kommen die intraepithelialen Fasern auch bei Schwein und Fleischfressern zu Gesicht. Bei diesen Tierarten sind darüber hinaus verschiedentlich Eigentümlichkeiten in den basalen Epithelschichten zu beobachten. Einmal treten hier Fasern zahlreicher auch von der Papillenbasis aus in das Epithel über (Hund, Katze), was möglicherweise durch die eigenartige Prägung des Papillarkörpers bei diesen Tieren bedingt ist (Abb. 1b), zum anderen nehmen die Fasern vielfach einen besonderen Ver-

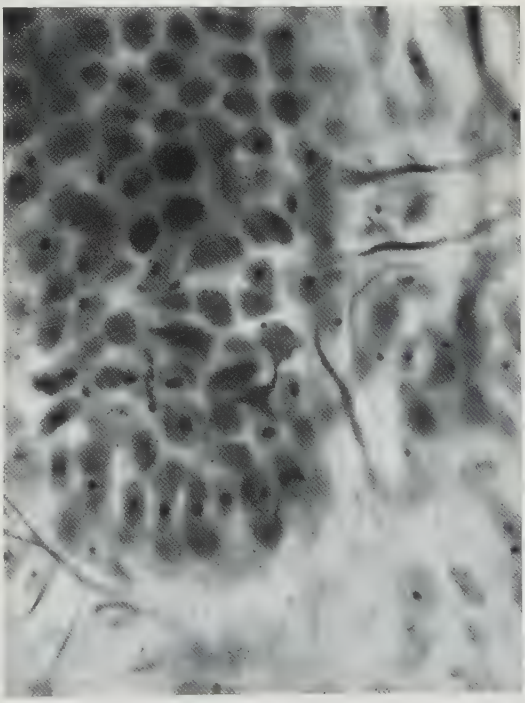


Abb. 5. Sensible Terminalfasern mit pinselartiger Aufzweigung am Kern einer Epithelzelle aus dem Nasenspiegel der Katze. Bielschowsky-Gros, Obj. Apo 40; OK 6

lauf. Beim Schwein kommt es durch reichliche Teilungen zur Bildung unregelmäßiger intraepithelialer Geflechte. Dabei sind zahlreiche Faserendigungen in Form pinselartiger Auflockerungen zu beobachten. In anderen Fällen erscheint das zunächst aufgelockerte Faserende als scheibenartige Verdichtung, als Tastmeniskus. Es fällt auch hier schwer, eine inter- oder intrazelluläre Lagerung der Terminalfasern auszumachen. Nahezu regelmäßig lagern sie sich den Kernen von Epithelzellen so dicht an, daß auf ihre intraplasmatische Lage geschlossen werden könnte. Die betroffenen Epithelzellen unterscheiden sich nicht oder

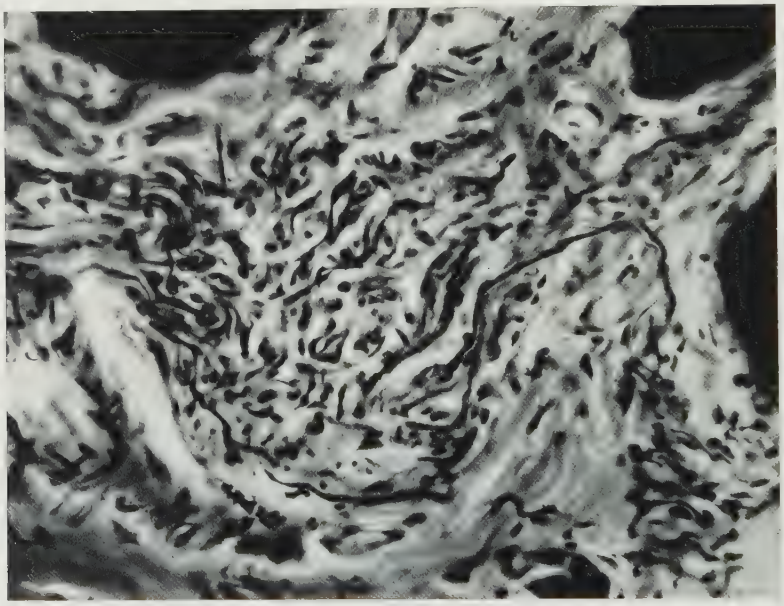


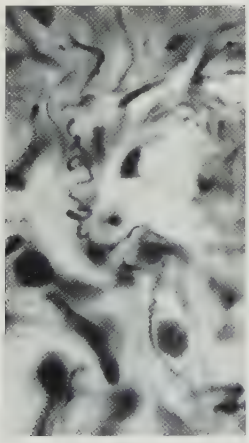
Abb. 6. Knäuelartige unregelmäßige Anhäufung sensibler Fasern in den oberen Schichten des Korium aus dem Nasenspiegel des Hundes. Bielschowsky-Gros, Obj. 10; OK 6

doch nicht wesentlich von den anderen. Sie erscheinen höchstens einmal etwas blasig vergrößert. Derlei Bildungen finden sich zu kleineren Gruppen zusammengelagert zahlreich in den Epithelzapfen. Weniger zahlreich als beim Schwein sind sie auch am Nasenspiegel des Hundes und der Katze zu beobachten, dort allerdings nur in Verbindung mit aufgelockerten Endpinseln am Faserende. Meniskusähnliche Verdickungen konnte ich bei dieser Tierart nicht beobachten.

Vielfach folgen die intraepithelialen Fasern bei der Katze in ihrem Verlauf dem Relief des Papillarkörpers, d.h. sie liegen parallel zur Basalmembran in den basalen Zellschichten.

Die Bindegewebsschichten der Haut enthalten zahlreiche Fasern verschiedenster Qualität. Neben den Anteilen der vegetativen Endformation (WALTER 1958) kommen stark markhaltige motorische Fasern überall dort vor, wo quergestreifte Muskelfasern in die genannten Gewebsabschnitte einstrahlen. Die Qualität dieser wie der in ebenfalls großer Zahl auftretenden sensiblen und markhaltigen Fasern kann jedoch nur dann beurteilt werden, wenn sie bis zum Faserende beobachtet werden können. Die in diesem Zusammenhang allein interessierenden sensiblen Fasern treten in stärkeren Bündeln von der Tiefe her in das Korium ein, wo sie durch

reichliche Verzweigungen mehr oder minder weitmaschige Geflechte bilden. Ihr Verzweigungsmodus und die damit verbundene fortschreitende Verringerung des Kalibers des Faserbündels kann etwa mit den entsprechenden Verhältnisse am Blutgefäßsystem, dem die Nerven in ihrem Verlauf weitgehend folgen, verglichen werden. Ein Teil der Fasern kann in dieser Weise bis dicht an die Epithelgrenze verfolgt werden und tritt nach Verlust der Markscheide in der vorher geschilderten Weise in das Epithel über. Ein Großteil bleibt jedoch im Bindegewebe des Korium, um dort auf eine zwar mannigfaltige, im Prinzip jedoch übereinstimmende Weise zu enden. Unterschiede zwischen den einzelnen Haustierarten sind hier nur hinsichtlich der Zahl und Verteilung sensibler Elemente gegeben, nicht hingegen in unterschiedlichen Endigungsformen. Auffallend dicht und in häufig unübersehbarer Anordnung treten die afferenten



a

b

Abb. 7. a Sensible Terminalfaser mit fibrillären Auflockerungen und pinselartigen Verzweigungen in unmittelbarer Nähe großer Zellkerne. Korium, Nasenspiegel Hund. Bielschowsky-Gros, Obj. Apo 40; OK 6. b Stark vergrößerter Ausschnitt aus Abb. 7a. Zeichnung

Nerven in dieser Lage am Nasenspiegel des Hundes auf. Die Einzelfasern sind wegen ihres unregelmäßigen Verlaufes oft nur über kurze Strecken zu verfolgen. Vielfach entstehen umfangreiche und unregelmäßige Aufknäuelungen, ohne daß es deswegen schon zur Bildung eines echten Endkörperchens käme.

Daneben treten gerade beim Hund Einzelfasern auf, deren kurze Seitenästchen mit zarten Fibrillenbüscheln dicht an Zellkernen enden (Abb. 7a). Sie wurden von KADANOFF (1924) als ein eigener Typ von Endkörperchen beschrieben, wobei der Autor die an den Terminalbildungen beobachteten Kerne als solche

von verlagerten Epithelzellen deutete. Ein Großteil der Fasern zeigt nach Verlust der Myelinscheide über weitere Strecken seines Verlaufes wechselnd starke fibrilläre Auflockerungen nach Art der bekannten Varikositäten. Dies kann insbesondere dicht unter der Epithelgrenze häufig beobachtet werden. Auch hier sind nahezu regelmäßig größere runde und meist schwächer imprägnierte Kerne zu sehen. Immer zeigt sich das Faserende als mehr oder minder lange pinselartige fibrilläre Auflockerung, wiederum in unmittelbarer Nähe der eben beschriebenen Kerne.

Weniger zahlreich, in den morphologischen Eigentümlichkeiten aber übereinstimmend, treten die genannten Endigungsformen in absteigender Folge bei Katze, Schwein, Rind, Ziege und Schaf auf.

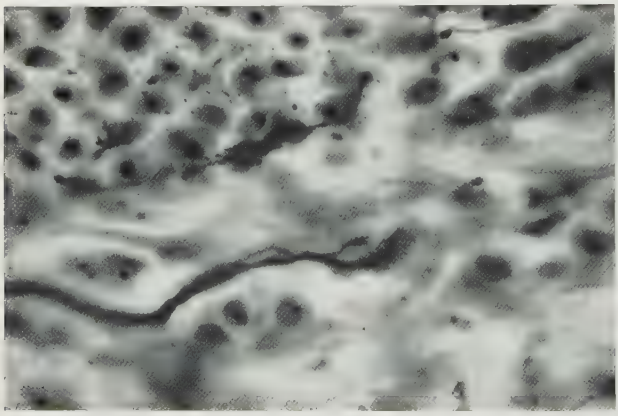


Abb. 8. Sensible Terminalfaser mit fibrillären Auflockerungen aus dem subepithelialen Bindegewebe. Nasenspiegel Katze. Bielschowsky-Gros, Obj. Apo 40; OK6

Neben diesen freien Endigungsformen afferenter Fasern treten echte Endkörperchen in den untersuchten Hautabschnitten nur in einem Typ auf, der jedoch keinem der bisher unter einer eigenen Bezeichnung geführten Typen zugeordnet werden kann und der bisher nur für das Flotzmaul des Rindes beschrieben wurde (MYFAUWY NISBET 1955). Er wird bei allen Haustierarten in übereinstimmender Weise gefunden. Tierartliche Unterschiede sind also nur hinsichtlich der *Häufigkeit* ihres Vorkommens gegeben. Über die Orte ihres vermehrten Auftretens im Lippen-Nasenbereich der Haussäugetiere gibt die schematisch vergleichende Übersicht (s. S. 397) Auskunft. Im einfachsten Fall zeigt ein solches Endkörperchen den in Abb. 9 dargestellten Bau.

Eine markhaltige Nervenfaser, zunächst noch von Glioplasma und Bindegewebsscheide umgeben, verliert plötzlich ihre Myelinscheide, und der Achsenzylinder lockert sich zu einem mehr oder minder langen, meist gestreckt auslaufenden Endpinsel auf. An der Stelle dieser fibrillären Auflockerung erfährt die Gliascheide eine deutliche kolbige Auftreibung, so daß der Endpinsel in die Achse eines lichtoptisch keine Zellgrenzen aufweisenden Glioplasmakolbens eingelagert erscheint, der nur selten eine zarte Längsstreifung erkennen läßt, die an eine Lamellenstruktur denken ließe. In die peripheren Zonen dieses Zytoplasmakolbens sind zahlreich große, rundliche Kerne eingebettet. Die Bindegewebshülle der Nervenfaser setzt sich kontinuierlich in die umhüllende zarte Bindegewebskapsel dieser Bildung fort. Sie zeigt hier wie dort die abgeflachten Kerne der Endoneuralscheide. Zwischen der Bindegewebshülle und dem Gliakolben eines solchen Endkörperchens erscheint vielfach ein wechselnd breiter und wohl fixationsbedingter Schrumpfungshof, der den eben geschilderten Aufbau erst recht deutlich werden läßt (Abb. 10a).

Grundsätzliche Abweichungen von diesem Bauprinzip finden sich nicht . Nur ganz vereinzelt beobachtet man Besonderheiten, wie die auf Abb. 10 b dargestellte Zweiteilung des Endpinsels innerhalb des Kolbens. Bei Rind und Schwein treten

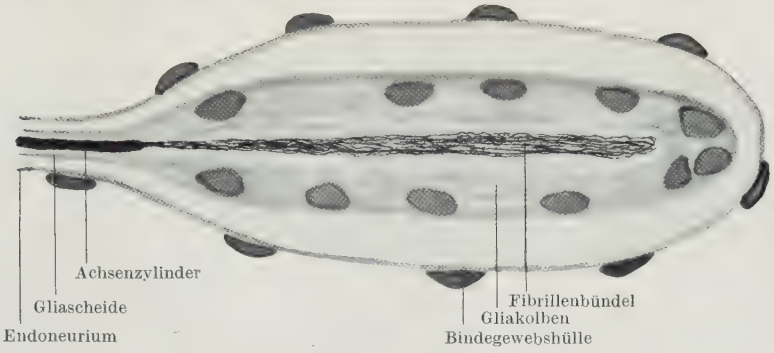
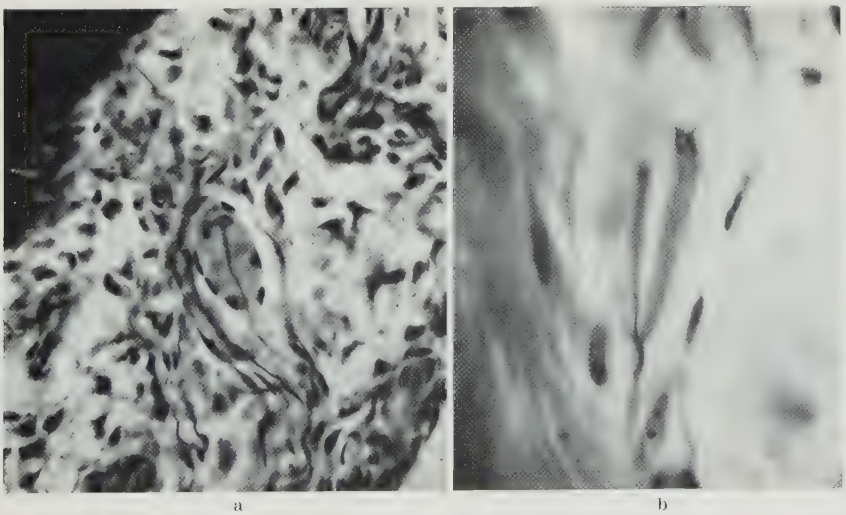


Abb. 9. Schematische Darstellung eines sensiblen Endkörperchens

diese Endkörperchen in besonders großer Zahl auf. Sie liegen meist unmittelbar unter dem Epithel. In der Rüsselscheibe des Schweines drängen sie sich sogar mit dem Korium nischenartig in die Epithelzapfen ein (Abb. 11 c). Oft liegen sie



a b

Abb. 10. a Sensibles Endkörperchen aus dem Nasenspiegel der Ziege. Bielschowsky-Gros, Obj. 10; OK 6. b Sensibles Endkörperchen aus dem Flotzmaul des Rindes. Bielschowsky-Gros, Obj. Apo 40; OK 6

einzeln. Meist aber gibt eine stärkere Nervenfaser ein ganzes Büschel von Ästchen ab, die in derartige Kolben eintreten, so daß Gruppen von 2—8 dicht zusammengelagerten Endkörperchen entstehen. Nahezu regelmäßig verlaufen zarte Einzelfasern dicht entlang der Bindegewebskapsel, ohne daß aus dieser Lage mit Sicherheit auf eine Zugehörigkeit der Faser zum Endkörperchen geschlossen werden könnte. Vielmehr kann in günstigen Fällen beobachtet werden, daß sie nach weiterem Verlauf in das Epithel eintritt und dort oder an irgendeiner Stelle des subepithelialen Bindegewebes ihr freies Ende findet. Darüber hinaus gelegentlich

zu beobachtende, dem Endkolben unmittelbar aufgelagerte feinst marklose Fäserchen lassen an eine funktionelle Zusammengehörigkeit von sensiblen Endkörperchen und neurovegetativem System denken. Die Form der Rezeptoren wechselt von kurzen, rundovalen (Abb. 10a), wie sie vornehmlich beim kleinen Wiederkäuer und Fleischfresser vorkommen, bis zu langgestreckten, bananen-

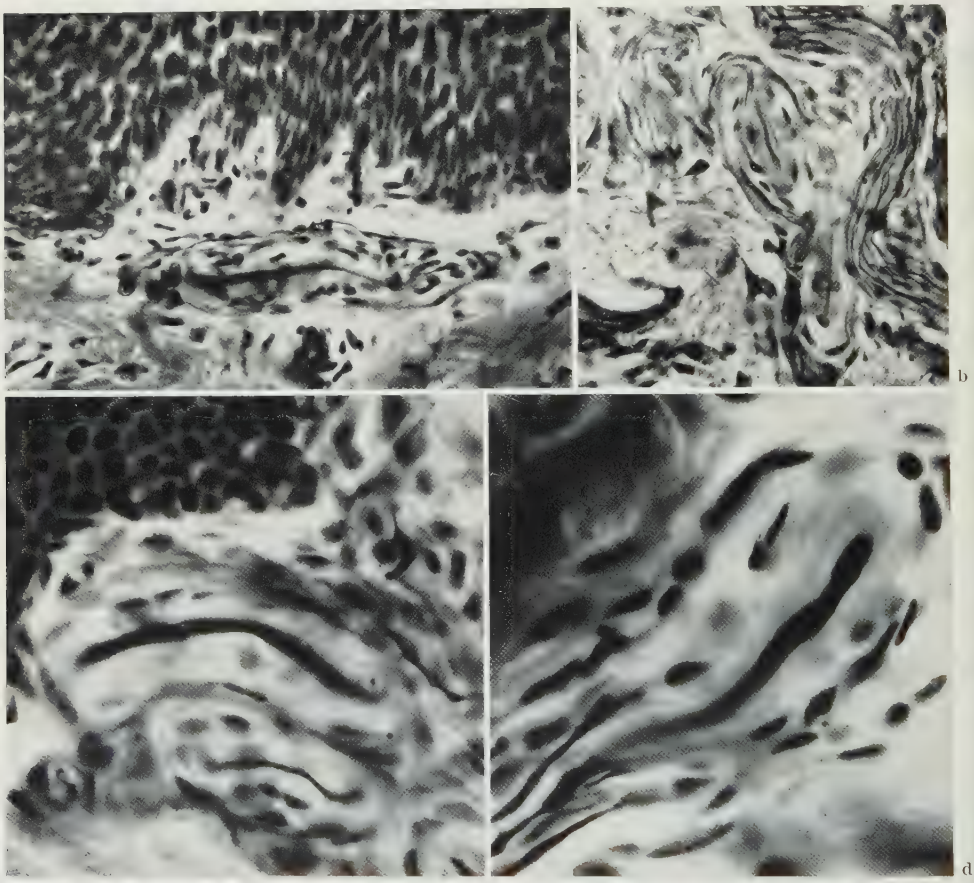


Abb. 11a—d. Sensible Endkörperchen aus den subepithelialen Bindegewebsschichten der Lippen-Nasen-Region. Bielschowsky-Gros. a Rind, Obj. 10; OK 6. b Ziege, Obj. 10; OK 6. c Schwein, Obj. 100 Öl; OK 6. d Rind, Obj. 100 Öl; OK 6

förmig gebogenen Kolben (Abb. 11), wie sie zahlreich bei Rind und Schwein zu beobachten sind. Ihre größte Längsausdehnung schwankt zwischen 30—150 μ.

Besprechung

Es erübrigt sich, hier auf die zahlreichen Berichte über Untersuchungen an den Rezeptoren des Tastsinnes im einzelnen einzugehen; es sei lediglich auf die entsprechenden Arbeiten von KANTNER (1952), HENSEL (1952) u.a. und auf die einschlägigen Handbuchartikel verwiesen (Literaturverzeichnis).

Fast allen Originalarbeiten, die sich mit diesem Gegenstand befassen, ist gemeinsam, daß sie unter Beachtung subtilster morphologischer Einzelheiten eine

Trennung der terminalen Abschnitte der sensiblen Versorgung der Haut in eine inzwischen nahezu unübersehbare Anzahl von Typen herbeiführen, die nebeneinander oder einander gegenübergestellt werden. Diese „Typen" werden von den Beschreibern mit den verschiedensten Bezeichnungen belegt, wobei entweder der Name des Entdeckers oder die vermeintliche funktionelle Bedeutung des Rezeptors den Ausschlag geben. Diese Bezeichnungen werden indessen so wechselnd und offenbar willkürlich gebraucht, daß vielfach gleiche Bildungen unter verschiedenen Namen oder verschiedene Bildungen unter dem gleichen Namen geführt werden. Ein Umstand, der in hohem Maße zur Verwirrung der Verhältnisse beigetragen hat. So ist es verständlich, daß wir noch heute keine rechte Vorstellung über die wirkliche Bedeutung der sensiblen Rezeptoren haben. Diese Feststellung ist keineswegs neu, wurde aber bisher nur vereinzelt [Hagen, Knoche, Sinclair, Weddel (1953); Stöhr jr. (1951, 1957); Kantner (1952); Hoepke (1958); Walter (1959)] geäußert. Dessenungeachtet hat die Einführung der Benennung sensibler Rezeptoren mit den Namen ihrer Entdecker (Krause, Dogiel, Ruffini, Meissner usw.) oder aber gar der Benennung nach ihrer vermeintlichen Funktion in nahezu alle einschlägigen Lehrbüchern Eingang gefunden und sich dort mit ganz geringen Einschränkungen bis in die modernsten Ausgaben gehalten [Bargmann (1959); Krölling-Grau (1960); Stöhr, v. Möllendorff, Goerttler (1959); Ph. Stöhr jr. (1951); Benninghoff (1960); Bucher (1956)].

Geht man nun zunächst an Hand kritischer Beobachtungen den sensiblen Endstrecken in einer größeren Zahl von Imprägnierungspräparaten (und nur mit solchen konnten die morphologischen Details bisher mit einiger Klarheit dargestellt werden!) der Haut nach, so offenbaren sich die Schwierigkeiten in der Zuordnung aufgefundener Strukturen zu den herkömmlichen Bezeichnungen schon allein in der Fülle von Übergangsformen. Hinzu kommt, daß die Beschreibung in den Originalarbeiten, die diese Typen erstmals als solche herausstellen, oftmals wirkliche morphologische Kriterien, die eine objektive Zuordnung ermöglichen würden, gar nicht erkennen lassen. Damit soll der Wert jener von zahlreichen Autoren durchgeführten Untersuchungen, in denen vielfach selbst feinsten Details hervorragende Beachtung geschenkt wurde, keineswegs gemindert werden. Daß sie uns indessen auf der Suche nach der funktionellen Bedeutung von sensiblen Rezeptoren nicht viel weitergeholfen haben, hat die Erfahrung inzwischen gezeigt.

Weit schwieriger noch zeigen sich die mehr oder minder glücklichen Versuche, bestimmten Typen solcher Sinnesrezeptoren bestimmte Funktionen, d.h. die Aufnahmefähigkeit für wohl unterschiedene Empfindungsqualitäten zuzuwerten. Die bisher durchgeführten wenigen experimentellen Beobachtungen scheinen mir von sehr beschränktem Wert zu sein und sind mit aller Zurückhaltung zu betrachten. Dies liegt in der komplizierten Natur des Untersuchungszieles, für welches es offenbar eine geeignete Versuchsanordnung gar nicht gibt. Es soll deshalb der Frage zunächst von der morphologischen Seite her nachgegangen werden. Eine Erklärung, wie wir uns die funktionellen Zusammenhänge zwischen Empfindungsqualität und sensiblem Rezeptor im einzelnen vorzustellen haben, wird sich damit sicherlich nicht herbeiführen lassen. Wohl aber führt ein solches Vorgehen, so meine ich, zumindest näher zu der Feststellung, wie wir uns die Abhängigkeit von Funktion und Struktur hier *nicht* vorstellen dürfen.

Für den vorliegenden Bericht habe ich aus mehreren Gründen die Untersuchungsergebnisse aus der Haut der Lippen-Nasenregion gewählt. Einmal haben Beobachtungen an Präparaten der behaarten Haut immer wieder bestätigt, daß hier, abgesehen von der Innervation der Haare, keine Besonderheiten gegeben sind. Zum anderen darf gerade dieser spezialisierte Hautabschnitt auch zur Aufnahme sensibler Reize in besonderem Maße für fähig gehalten werden. Jedenfalls lassen Verhaltensweise und Reaktionen der Haustiere diese Körperstelle deutlich als Tastorgan erscheinen. Es darf also von der Voraussetzung ausgegangen werden, daß gerade hier die Möglichkeit zur Aufnahme der verschiedensten Empfindungsqualitäten gegeben ist. Der morphologische Befund jedoch hat nicht nur eine weitgehende Übereinstimmung der Verhältnisse bei den einzelnen Haustierarten gezeigt, sondern darüber hinaus sogar innerhalb der einzelnen Tierart verhältnismäßig unkomplizierte Verhältnisse. Wenn, wie es hier geschehen soll, einmal bewußt von der Unterscheidung nich wesentlich voneinander verschiedener Endigungsformen abgesehen wird, so geschieht dies, um damit gerade die gemeinsamen Kennzeichen aufzuzeigen. Selbst bei Beachtung feinerer morphologischer Details aber würde der Befund kaum vielgestaltiger, weil zumindest für die echten Endkörperchen nur ein einziger Typ gefunden wird. Grundsätzlich kann zwischen *freien Endigungen* und *Endkörperchen* unterschieden werden. Immer zeigen sich die freien Endigungen als Terminalfasern, die sowohl im Epithel als auch im untergelagerten Bindegewebe in unmittelbahrer Nähe von meist runden, locker strukturierten und mit deutlichen Nukleolen ausgerüsteten Kernen enden. Im Epithel handelt es sich dabei wohl um Kerne dieses Gewebes. Im Bindegewebe bleibt es zuweilen unklar, ob es sich um solche des begleitenden Gliaäquivalentes oder von Fibrozyten handelt. Als übereinstimmendes Merkmal zeigt die Faser in der Nähe dieser Kerne eine fibrilläre Auflockerung ihres Endes in Form von Pinseln verschiedener Gestalt und Größe. Ob eine solche Faser sich vor ihrem Ende gabel- oder baumförmig verzweigt, erscheint mir für ihre Funktion bedeutungslos. Es entsteht vielmehr der Eindruck einer reinen Vergrößerung der zur Reizaufnahme fähigen Oberfläche. Die auffallende Lage der genannten Kernformen an sensiblen Faserenden läßt an eine Bedeutung dieser Struktur für die synaptische Funktion denken, wenn man vergleichsweise an die motorische Endplatte erinnert. Welche Zytoplasmaqualität bei der peripheren sensiblen Synapse die entscheidende Rolle spielt, bleibt allerdings unklar, vorausgesetzt, daß eine solche zum Funktionieren der Reizaufnahme notwendig ist. Wenn für die freien Endigungen der offensichtlich nackten Achsenzylinder im Epithelgewebe das Zytoplasma eben dieser Zellen jene besondere Rolle spielt, so besteht keine Veranlassung, die gleiche Leistungsfähigkeit nicht auch für besondere Zellen des Bindegewebes oder gar das Glioplasma (wie dies gerade im Endkörperchen zu sein scheint) anzunehmen.

Im Prinzip ähnlich sind die Verhältnisse an den aufgefundenen Endkörperchen. Dabei betrachte ich als wirkliche Endkörperchen nur solche Bildungen, die abgesehen von feineren morphologischen Details regelmäßig folgende 3 Charakteristika erkennen lassen: 1. Das sensible Faserende, 2. eine zytoplasmatische Substanz (vermutlich gliöser Natur), die dieses Faserende umgibt und 3. eine deutlich zu dieser Endbildung orientierte nichtnervöse Gewebsstruktur (Bindegewebe oder Epithel) im Sinne einer begrenzenden Kapsel. Bei solcher Betrachtungsweise

aber dürfen die Merkelschen Tastscheiben, vielfach als Körperchen oder Dogielsche Körperchen bezeichnet, nicht mehr als Körperchen angesprochen werden. Sie finden sich ausschließlich im Epithel, sind dort jedoch niemals kapselartig gegen das umgebende Gewebe abgesetzt, wie dies bei den Rezeptoren des Geschmackssinnes durchaus der Fall ist. Es fehlt von vornherein das Kriterium regelrechter „Körperchen". Damit finden sich für die sensiblen Rezeptoren der äußeren Haut Endkörperchen niemals im Epithel, sondern ausschließlich im unterlagerten Bindegewebe. Bei den hier in Rede stehenden Endkörperchen, die die oben genannten Charakteristika sehr wohl aufweisen, handelt es sich um eine relativ unkomplizierte Bildung, deren Zuordnung zu einem der festgelegten Typen kaum möglich ist, Die Einfachheit der Terminalfaser und die lichtoptische Homogenität des umgebenden Gliakolbens, die höchstens einmal eine unregelmäßig zarte Streifung erkennen läßt (morphologische Beschreibung s. S. 402) und die zarte einschichtige Bindegewebskapsel lassen eine solche Bildung als einfachen Endkolben erscheinen. Abweichungen von dieser Form, wie sie beispielsweise infolge der komplizierteren Struktur der Terminalfaser in Krauseschen, Meißnerschen und anderen Körperchen oder etwa die Lamellierung im Vater-Pacinischen Körperchen gegeben ist, wurden hier niemals gefunden. Das gemeinsame Kennzeichen dieser Endkolben ist hier auch im Vergleich zu anderen sensiblen Endkörperchen — ähnlich den für die freien Nervenendigungen geschilderten Verhältnissen — durch die offensichtliche Lagebeziehung zwischen sensiblem Faserende und Zellkernen gegeben, wie sie für die freien Endigungen bereits geschildert wurden. Im Falle des Endkörperchens scheint es sich dabei um Kerne des Gliaäquivalentes zu handeln, das sich in Begleitung des Achsenzylinders kontinuierlich aus der Schwannschen Scheide der Faser fortsetzt (Abb. 9).

Eine Erklärung für die funktionellen Zusammenhänge des Hautsinnes ist bei den beschriebenen Gegebenheiten, soweit sie aus dem morphologischen Befund überhaupt ersehen werden können, nur nach 2 Richtungen möglich: Wollte man unterstellen, daß es zur Aufnahme unterschiedlicher Reizqualitäten (nicht Quantitäten) morphologisch verschiedener Rezeptoren bedarf, so müßte gerade für die hier zugrunde gelegte Region der Körperoberfläche unserer Haustiere ein sehr beschränktes Unterscheidungsvermögen angenommen werden. Die Kenntnis der Innervationsverhältnisse der behaarten Haut müßte darüber hinaus zwangsläufig zu der Annahme führen, daß unsere Haussäugetiere an ausgedehntesten Abschnitten ihrer Körperoberfläche gar nicht zur Aufnahme verschiedener Reizqualitäten imstande sind. Daß dies kaum der Fall sein kann, lehrt der Umgang mit Tieren, man müßte denn für die sensible Versorgung der Haare weit vielfältigere Leistungsmöglichkeiten annehmen als für die Rezeptoren der unbehaarten Haut. Dazu aber berechtigt der morphologische Befund keineswegs. Als andere Erklärung bleibt demnach nur die Möglichkeit, daß ein und derselbe Rezeptor zur Aufnahme verschiedener Empfindungsqualitäten geeignet ist.

Anders als mit der Aufnahmefähigkeit für unterschiedliche Empfindungs*qualitäten* verhält es sich mit der Möglichkeit zur Wahrnehmung von *Quantitäts*unterschieden. Hier kann sehr wohl eine Erklärung für den an anderen Stellen der Körperoberfläche und auch Organen gegebenen Formenreichtum sensibler Rezeptoren gesehen werden. An den Stellen des Körpers nämlich, an denen die Reizaufnahme durch mechanische Behinderung eingeschränkt ist, können die

Empfänger durch mehr oder minder komplizierte Strukturveränderungen zu einer besseren Aufnahme befähigt werden, wie dies beispielsweise für das Lamellenkörperchen mit seinen Flüssigkeitsmänteln durchaus denkbar ist. Eine ähnliche Vorstellung haben wir ja auch vom Sinushaar gegenüber dem sensibel innervierten Fellhaar. Solche Rezeptoren finden sich vermehrt in tieferen Lagen oder dort, wo die Reizaufnahme durch überlagerte Gewebsschichten behindert ist (Huf, Klaue, Kralle, Horn, Schnabel usw.). An anderen Körperstellen, Fingerbeere, Papilla mammae, dem Genitale usw., wird ebenfalls ein beachtlicher Formenreichtum beobachtet. Hier aber handelt es sich um Körperstellen, die sicher auch zur raschen und feinsten Wahrnehmung von *Quantitäts*unterschieden in der Empfindung fähig sein müssen.

An welchem Ort der nervösen Leitungsbahn und auf welche Weise es unter den aufgezeigten Verhältnissen zur Trennung von Qualitätsunterschieden und damit zur Wahrnehmung verschiedener Empfindungen kommt, bleibt unklar, wenn unsere heutige Vorstellung von den stets gleichgearteten Vorgängen bei der Leitung eines nervösen Impulses zu Recht besteht.

Zusammenfassung

Die sensiblen Rezeptoren der Haut des Lippen-Nasenbereiches von Rind, Schaf, Ziege, Schwein, Hund, und Katze in Form freier Nervenendigungen und Endkörperchen stimmen bei den untersuchten Tierarten weitgehend überein. Freie Endigungen kommen im Epithel und in den Bindegewebsschichten der Haut vor, Endkörperchen ausschließlich im Bindegewebe. Es wird nur ein Typ sensibler Endkörperchen gefunden und als einfacher Endkolben beschrieben.

Eine Zuordnung bestimmter Empfindungsqualitäten zu bestimmten Rezeptorentypen erscheint fraglich. Es wird vielmehr angenommen, daß alle Typen zu grundsätzlich gleichen Leistungen befähigt sind.

Literatur

Bargmann, W.: Histologie und mikroskopische Anatomie des Menschen, 3. Aufl. Stuttgart 1959.

Benninghoff, A., u. R. Goerttler: Lehrbuch der Anatomie des Menschen, Bd. III: Nervensystem, Haut und Sinnesorgane. München u. Berlin 1960.

Boeke, J.: Die Beziehungen der Nervenfasern zu den Bindegewebselementen und Tastzellen. Z. mikr.-anat. Forsch. **4**, 448—509 (1925).

Botezat, E.: Die Nervenendigungen in der Schnauze des Hundes. Morph. Jb. **29**, 433—449 (1902).

— Die Nerven der Epidermis. Anat. Anz. **33**, 45—75 (1908).

— Die Apparate des Gefühlssinnes der nackten und behaarten Säugetierhaut, mit Berücksichtigung des Menschen. Anat. Anz. **42**, 193—250, 273—318 (1912).

Boyd, J. A.: The histological structure of the receptors in the knee-point of the cat correlated with their physiologicae responte. J. Physiol. (Lond.) **124**, 476—488 (1954).

Bucher, O.: Histologie und mikroskopische Anatomie des Menschen, 2. Aufl. Bern u. Stuttgart 1956.

Clara, M.: Das Nervensystem des Menschen. Leipzig 1959.

Dogiel, A. S.: Der fibrilläre Bau der Nervenendapparate in der Haut des Menschen usw. Anat. Anz. **27**, 97—118 (1905).

Eberth, C. J.: Die Endigungen der Hautnerven. Arch. mikr.-Anat. **6**, 225—228 (1870).

Fleckenstein, A.: Die periphere Schmerzauslösung und Schmerzausschaltung. Frankfurt 1950.

Frey, M. V. u. F. Hacker: Die Schichtung der Nervenenden in der Haut. Arb. physiol. Inst. Würzb. **13** (1915).

Hagen, E., H. Knoche, D. C. Sinclair and G. Weddel: The role of specialized nerve terminals in cutaneous sensibility. Proc. roy. Soc. **141**, 279—287 (1953).

Hensel, H.: Physiologie der Thermorezeptoren. Ergebn. Physiol. **47**, 166—368 (1952).

Hoepke, H.: Die Haut. In Handbuch der mikroskopischenAnatomie des Menschen, herausgeg. von W. v. Möllendorff, S. 1—100, 1927.

— Neue Befunde über die sensible Innervation der Haut. Acta neuroveg. (Wien) **18**, 49—59 (1958).

Kadanoff, D.: Eine besondere Nervenendigung in der Haut des Menschen. Zeitschr. f. Anat. u. Entw.-Gesch. **72**, 542—544 (1924).

— Über die Nerven in der äußeren Wurzelscheide der Haare des Menschen. Z. Zellforsch. **6**, 631—636 (1928).

— Über die Nerven im Epithelgewebe beim Menschen und bei den Säugetieren. Verh. phys. med. Ges. Würzb. **53**, 13—24 (1928).

— Die Innervation der Haare des Menschen. Acta neuroveg. (Wien) **18**, 159—168 (1958).

Kallius, E.: Endigungen sensibler Nerven bei Wirbeltieren. Ergebn. Anat. Entwickl.-Gesch. **5** (1895).

Kantner, M.: Studien über den sensiblen Apparat in der Glans penis. Anat. Anz. **99**, 159—180 (1952).

— Studien über den sensiblen Apparat in der Glans penis. II. Z. mikr.-anat. Forsch. **59**, 439—462 (1953).

— Studien über den sensiblen Apparat in der Glans clitoridis. I. Die Clitoris der Greisin. Z. mikr.-anat. Forsch. **60**, 388—398 (1954).
Neue morphologische Ergebnisse über die peripherischen Nervenausbreitungen und ihre Deutung. Acta anat. (Basel) **31**, 397—425 (1957).

— Die Sensibilität der Katzenzunge. Acta neuroveg. (Wien) **15**, 223—234 (1957).

Kölliker, A. J.: Handbuch der Gewebelehre des Menschen, VI. Aufl. 1889.

Krause, W.: Die Nervenendigung innerhalb der terminalen Körperchen. Arch. mikr. Anat. **19**, 53—129 (136) (1881).

— Die Nervenendigung in den Tastkörperchen. Arch. mikr. Anat. **20**, 212—221 (1882).

Krölling, O., u. H. Grau: Lehrbuch der Histologie und vergleichenden mikroskopischen Anatomie der Haustiere. Berlin u. Hamburg 1960.

Ksjünin, P.: Zur Frage der Nervenendigungen in den Tast- oder Sinushaaren. Arch. mikr. Anat. **54**, 403—417 (1899).

Leontowitsch, A. D.: Innervation der menschlichen Haut. Int. Mschr. Anat. Physiol. **18** (1901).

Merkel, Fr.: Über die Endigungen der sensiblen Nerven in der Haut. Göttinger Nachr. 1875.

— Tastzellen und Tastkörperchen bei den Haustieren und beim Menschen. Arch. mikr. Anat. **11** (1875).

— Bemerkungen zu Herrn Krauses Aufsatz über Nervenendigungen innerhalb der terminalen Körperchen. Arch. mikr. Anat. **19** (1881).

Müller, L. R.: Lebensnerven und Lebenstriebe, 3. Aufl. Berlin 1931.

Myfauwy Nisbet, A.: Sensory nerve endings in the bovine muffle. J. Physiol. (Lond.) **130**, 3 (1955).

Okamura, Ch.: Die Nervenendapparate der Sinus- und gewöhnlichen Haare der Maus. Z. mikr.-anat. Forsch. **42**, 578—594 (1937).

Ostrounow, P.: Die Nerven der Sinushaare. Anat. Anz. **10**, 781—790 (1895).

Pease, D., C. and A. Quilliam: Electron microscopy of the pacinian corpuscle. J. biophys. biochem. Cytol. **3**, 331—342 (1957).

Ruffini, A.: Les expansions nerveuses de la peau. Rev. gén. Histol. **1**, 421 (1905).

Skramlik, E. v.: Über die Lokalisation der Empfindungen bei den niederen Sinnen. Z. Sinnesphysiol. **56**, 69 (1924).

— Psychophysiologie des Temperatursinnes. In Psychophysiologie der Tastsinne. Arch. Psychol. (Erg.-Bd.) **4**, 244—366 (1937).

Stöhr jr., Ph.: Die peripherischen Endigungen der Nerven. In Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen. 1928.
— Über den Bau sensibler Nervenendigungen in der Pia mater des Menschen. Z. Zellforsch. **30**, 78—97 (1940).
— Lehrbuch der Histologie. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1951.
— Mikroskopische Anatomie des vegetativen Nervensystems. In W. v. Möllendorffs Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen. Berlin-Göttingen-Heidelberg 1957.
—, u. W. v. Möllendorff: Lehrbuch der Histologie. Jena 1922.
—, — u. K. Goerttler: Lehrbuch der Histologie. Jena 1959.
Strughold, H.: Die spezifischen Empfänger der Kaltempfindung. Verh. phys.-med. Ges. Würzb. **51**, 31—44 (1926).
—, u. M. Karbe: Die Topographie des Kältesinnes auf Cornea und Conjunctiva, ein Beitrag zur Frage nach den spezifischen Empfängern desselben. Z. Biol. **83**, 189—200 (1925a).
— — Vitale Färbung des Auges und experimentelle Untersuchung der gefärbten Nervenelemente. IV. (III. gemeinsame) Mitt. Z. Biol. **83**, 297—308 (1925c).
—, u. R. Porz: Die Dichte der Kaltpunkte auf der Haut des menschlichen Körpers. Z. Biol. **91**, 563—571 (1931).
Szymonowicz, W.: Beiträge zur Kenntnis der Nervenendigungen in Hautgebilden. Arch. mikr. Anat. **45** (1895).
— Über die Nervenendigungen in den Haaren des Menschen. Arch. mikr. Anat. **74**, (1909).
— Vergleichende Untersuchungen über die Innervation der Sinushaare bei den Säugern. I., II., III. Z. Anat. Entwickl.-Gesch. **105**, 459—490 (1936); **106**, 85—97 (1936); **108** (1937).
Timofeew, T.: Über eine besondere Art von eingekapselten Nervenendigungen in den männlichen Geschlechtsorganen bei den Säugetieren. Anat. Anz. **11**, 44—49 (1896).
Tretjakoff, D.: Zur Frage der Nerven in der Haut. Z. wiss. Zool. **71** (1902).
— Die Nervenendigungen an den Sinushaaren des Rindes. Z. wiss. Zool. **97** (1911).
Tschernjaschiwsky, A.: Zur Frage über die Nervenendigungen des Haares. Anat. Anz. **75**, 169—174 (1932).
Walter, P.: Zur Innervation der Pferdelippe. Z. Zellforsch. **43**, 459—477 (1956).
— Sinneshaare im Bereich der Pferdelippe. Zbl. Vet. Med. **3**, 599—604 (1956).
— Symposion über das neurovegetative System der Haut des Menschen. 30. 5.—1. 6. 1957 in Wien. Acta neuroveg. (Wien) **17**, 167—183 (1958).
— Sensible Rezeptoren und Empfindungsqualität. Tierärztl. Umschau **4**, 127—129 (1959).
Weddell, G.: Anatomy of cutaneous sensibility. Brit. med. Bull. **3**, 167 (1945).

Priv.-Doz. Dr. Peter Walter, Tieranatomisches Institut der Universität München
Schwere Reiterstr. 9

Zeitschrift für Zellforschung 53, 411—430 (1961)

Aus der Forschungsabteilung für Elektronenmikroskopie der Freien Universität Berlin
(Leiter: Prof. Dr. med. Willy Schwarz)

ELEKTRONENMIKROSKOPISCHE UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE FIBRILLOGENESE IN DER HAUT MENSCHLICHER EMBRYONEN

Von

H.-J. Merker*

Mit 11 Textabbildungen

(Eingegangen am 8. Oktober 1960)

Einleitung

Die Feinstruktur des Bindegewebes ist in den letzten Jahren durch elektronenmikroskopische Untersuchungen genauer dargestellt worden. Über das Problem der Fibrillogenese jedoch — schon lichtmikroskopisch sehr umstritten und oft bearbeitet — konnte auch jetzt keine Einigung erzielt werden. Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die Fibrillogenese liegen von verschiedenen Autoren vor:

S. Bradbury und G. A. Meek (*Hirudo medicinalis*, 1958), R. Gieseking (embryonale Hühnerhaut, 1959, 1960), E. D. Hay (Extremitätenregenerat von *Amblystoma-Larven*, 1958), van den Hooff (embryonales Hühnerbindegewebe, 1959), S. Fitton Jackson (Gewebekulturen, 1953; embryonales Hühnerbindegewebe, 1955, 1956, 1957, 1957a), T. Hashizume (Mäusegranulom, 1959), Kajikawa et al. (embryonales Mäusebindegewebe; Granulome, 1959), K. Kajikawa (Übersicht 1957), K.-H. Knese und A.-M. Knoop (Tibien von Rattenfeten, 1958; Knochen von Rattenfeten, 1959), Th. Nemetschek (embryonales Rattenbindegewebe, 1958), A. Policard u.a. (Silikosegranulome, 1957), K. R. Porter (Fibroblastenkulturen, 1952; embryonale Hühnerhaut, 1959), W. C. Robbins et al. (Fibroblastenkulturen, 1955), W. Schwarz (embryonale Aorta des Menschen, 1959; embryonale Cornea des Menschen, 1960), W. Schwarz und H.-J. Merker (embryonale Lunge des Menschen, 1958), B. L. Scott und R. A. Robinson (embryonale Rattenknochen, 1956), H. Sheldon and R. A. Robinson (Tibien von neugeborenen Mäusen, 1957), H. Sheldon (Knochen neugeborener Ratten, 1960), F. Wassermann (Rattensehnenregenerat, 1954; Übersichten, 1956, 1956a, 1959), F. Wassermann and L. Kubota (Bindegewebe von Hühnerembryonen, 1956).

Die genannten Arbeiten versuchen hauptsächlich die Frage nach der extra- oder intrazellulären Bildung der ersten elektronenmikroskopisch sichtbaren Fibrillen zu beantworten, d. h. sie berücksichtigen nur einen Teil der Fibrillogenese. Dieser komplexe Vorgang umfaßt die *Synthese der Kollagenvorstufen*, *den Aufbau der Fibrillen* aus diesen Vorstufen, *das Dickenwachstum der Fibrillen* und die *Bildung der Kittsubstanzbausteine*.

Die *Kollagensynthese* wird von allen Untersuchern übereinstimmend in die Fibroblasten verlegt. In elektronenmikroskopischen Bildern von Fibroblasten fällt der Reichtum an endoplasmatischem Retikulum mit Palade-Granula auf, das nach Palade (1956), Siekevicz u.a. (1958) für die Proteinsynthese verantwortlich ist. Gieseking (1959), Fitton Jackson (1957), Kajikawa et al. (1959), Porter (1959), Sheldon et al. (1957) und Schwarz (1959, 1960) halten deshalb

* Mit Unterstützung durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft.

das endoplasmatische Retikulum der Fibroblasten für den Ort der Kollagensynthese. Der Ort der *Zusammenlagerung des Kollagens zu Fibrillen* ist jedoch noch umstritten. Die angeführten Arbeiten konnten nicht klären, ob das Kollagen die Zellen als Polypeptid, als monomeres Tropokollagenmolekül oder schon als polymerisierte Fibrille verläßt. Von biochemischer Seite wird angenommen, daß der Fibroblast das Kollagen als monomeres Tropokollagenmolekül (3 Polypeptidketten in α-Helixform, 15 Å breit und 2800 Å lang) zur Verfügung stellt [J. Gross et al. (1955), D. S. Jackson et al. (1960), F. O. Schmitt (1959) und Hodge et al. (1960)]. Wassermann (1956) und Gieseking (1959) stellten 100 Å dicke Fibrillen ohne ausgeprägte Querstreifung innerhalb der Zellen dar. Besonders die Auffassung von Gieseking erinnert an die alte „Exoplasmatheorie" von Studnička (1929). S. Fitton Jackson (1957) und K. H. Knese et al. (1958) beschreiben sowohl intra- als auch extrazelluläre Fibrillenbildung. Alle anderen Autoren sahen elektronenmikroskopisch darstellbare Fibrillen nur außerhalb der Zellen. Porter und Pappas (1959) schreiben darüber hinaus der Zellmembran noch eine besondere Rolle bei der Fibrillogenese zu.

Die gebildeten dünnen Fibrillen verdicken sich im extrazellulären Raum noch beträchtlich. Über den Mechanismus dieses *Dickenwachstums* liegen nur wenige Untersuchungen vor. Die Dickenzunahme beruht nicht auf einer Zusammenlagerung dünner Fibrillen (S. Fitton Jackson 1957 und D. S. Jackson et al. 1960). Vielmehr lassen elektronenmikroskopisch kontrollierte in vitro-Versuche von Hodge und Schmitt (1960) sowie biochemische Überlegungen von Gross et al. (1955) und D. S. Jackson et al. (1960) vermuten, daß sich monomere Tropokollagenmoleküle seitlich an vorgebildete Fibrillen anlagern. Dieser Prozeß geht während der embryonalen Fibrillogenese (der „progressiven Wachstumsphase" von Schwarz et al., 1958) an allen Fibrillen fast gleichmäßig vor sich. Deshalb zeigen die Verteilungskurven der Fibrillendicken in dieser Zeit nur eine geringe Streuungsbreite; sie gleichen einer Normalverteilungskurve (Schwarz 1957, Schwarz et al. 1958, S. Fitton Jackson 1957). Die Darstellung dieser Vorgänge ist jedoch sehr schwierig, da die Größe des monomeren Tropokollagenmoleküls an der Grenze des elektronenmikroskopischen Auflösungsvermögens liegt.

Die *Kittsubstanz* umhüllt die Fibrillen. Sie ist wahrscheinlich in die Fibrillen eingebaut und faßt sie zu Fasern zusammen. Die Kittsubstanz besteht einmal aus Substanzen, die durch das Blut zugeführt werden (Proteine, Glykoproteine, Ionen und andere Stoffwechselprodukte), außerdem aus örtlich entstandenen Stoffen, wie Kollagenvorstufen und Mukopolysacchariden. Die Mukopolysaccharide sollen wichtige Aufgaben bei der Fibrillenbildung und der normalen Funktion des Bindegewebes erfüllen (Asboe-Hansen 1957; Dorfmann et al. 1958; Meyer 1954; Morrione 1952; D. S. Jackson et al. 1960). Für ihre Bildung werden gleichfalls die Fibroblasten verantwortlich gemacht (Gersh et al. 1949; S. Fitton Jackson 1957a; Grossfeld et al. 1957; Meyer 1960; Schwarz 1960). Asboe-Hansen (1957) hält die Mastzellen für die Bildner der Hyaluronsäure, vielleicht auch anderer Mukopolysaccharide. Elektronenmikroskopische Untersuchungen liegen darüber jedoch noch nicht vor. Ebenso ist der Ort der Mukopolysaccharidsynthese in diesen Zellen noch nicht bekannt. Knese und Knoop (1959) verlegen die Mukopolysaccharidbildung der Osteoblasten in die

erweiterten Abschnitte des endoplasmatischen Retikulums. Schwarz (1960) macht besondere kleinvesikuläre Strukturen in den Fibroblasten der embryonalen Cornea des Menschen für die Bildung der Mukopolysaccharide verantwortlich. Diese Gebilde haben hier enge Beziehungen zum endoplasmatischen Retikulum. Auch Merker et al. (1960) konnten in der Mikrosomenfraktion von Hyaluronsäure produzierenden Ascitestumorzellen Hyaluronsäure darstellen; die Autoren denken deshalb an eine Beteiligung des endoplasmatischen Retikulums bei der Mukopolysaccharidsynthese. Fast alle diese Befunde wurden an tierischem Material gewonnen. Schwarz und Merker (1958), Schwarz (1959, 1960) und Kajikawa et al. (1959) arbeiteten an menschlichem Material.

In der vorliegenden Arbeit wird die Fibrillogenese in der *embryonalen Haut des Menschen* untersucht, um zu den strittigen Fragen der Kollagensynthese, Fibrillenbildung, des Dickenwachstums der Fibrillen und der Kittsubstanzbildung Stellung zu nehmen. Eine Gegenüberstellung mit der Fibrillogenese in anderen Organen des Menschen und des Tieres ist wichtig, da die einzelnen Gewebe einen verschiedenen Gehalt an Kollagen und Mukopolysacchariden haben. Ein Unterschied in der Feinstruktur der Fibroblasten dieser Gewebe könnte Rückschlüsse auf deren Funktion zulassen.

Material und Methoden

Untersucht wurde die Haut der Rückengegend von 2 menschlichen Embryonen[1] mit einer Scheitel-Steißlänge von 62 bzw. 128 mm. Das Gewebe konnte lebensfrisch entnommen und in einer 1%igen OsO_4-Tyrodelösung, die mit $NaHCO_3$ auf ein p_H von 8 gebracht wurde, fixiert werden (S. Fitton Jackson 1958). Einbettung in einem Methacrylsäuregemisch 30:70. Wir benutzten ein Porter-Blum- bzw. ein Sjöstrand-Mikrotom und färbten mit einer 1%igen Phosphorwolframsäurelösung oder Uranylnitratlösung nach. Aufnahmen: Zeiss-Elektronenmikroskop vom Typ EM 8/II bei einer Strahlspannung von 40—50 kV.

Befunde

Das Bindegewebe der Haut eines *zwei Monate alten menschlichen Embryos* besteht lichtmikroskopisch aus einem lockeren retikulären Zellverband. Kleine argyrophile Fasern lassen sich schon nachweisen. Eine Unterscheidung einzelner Schichten des Bindegewebes ist aber noch nicht möglich. Elektronenmikroskopische Bilder bestätigen diese Befunde und lassen weitere Einzelheiten erkennen. Die Zellen besitzen einen oder mehrere Fortsätze und weisen deshalb ein spindelförmiges oder gezacktes Aussehen auf (Abb. 1). Die verschieden dicken Fortsätze strahlen nach allen Seiten aus. Ihre Länge kann beträchtlich sein, jedoch ist die genaue Längenbestimmung nicht möglich, da wegen der geringen Schnittdicke der Verlauf der Ausläufer nie über längere Strecken verfolgt werden kann. Die Zellmembran ist immer vorhanden. Ihr Fehlen spricht, gemessen an dem Erhaltungszustand der übrigen Zellorganellen, für ein Fixierungs-Artefakt. Auch an den Kontaktstellen zweier Fortsätze sind die Zellmembranen immer gut auszumachen; ein Syncytium liegt also nicht vor. Der große, ovoide und manchmal etwas gelappte Kern enthält einen oder zwei typische Nucleoli. Die elektronenmikroskopisch sichtbare Kernsubstanz verteilt sich sehr gleichmäßig über das

[1] Für die Überlassung des Materials danken wir Herrn Doz. Dr. H.-W. Boschann, Chefarzt der Geburtshilflich-gynäkologischen Abteilung des Rudolf Virchow-Krankenhauses Berlin.

Kerngebiet. Der perinukleäre Cytoplasmasaum kann sehr dünn sein, so daß oft nur eine 600 Å breite Cytoplasmazone den Kern vom Interzellularraum trennt.

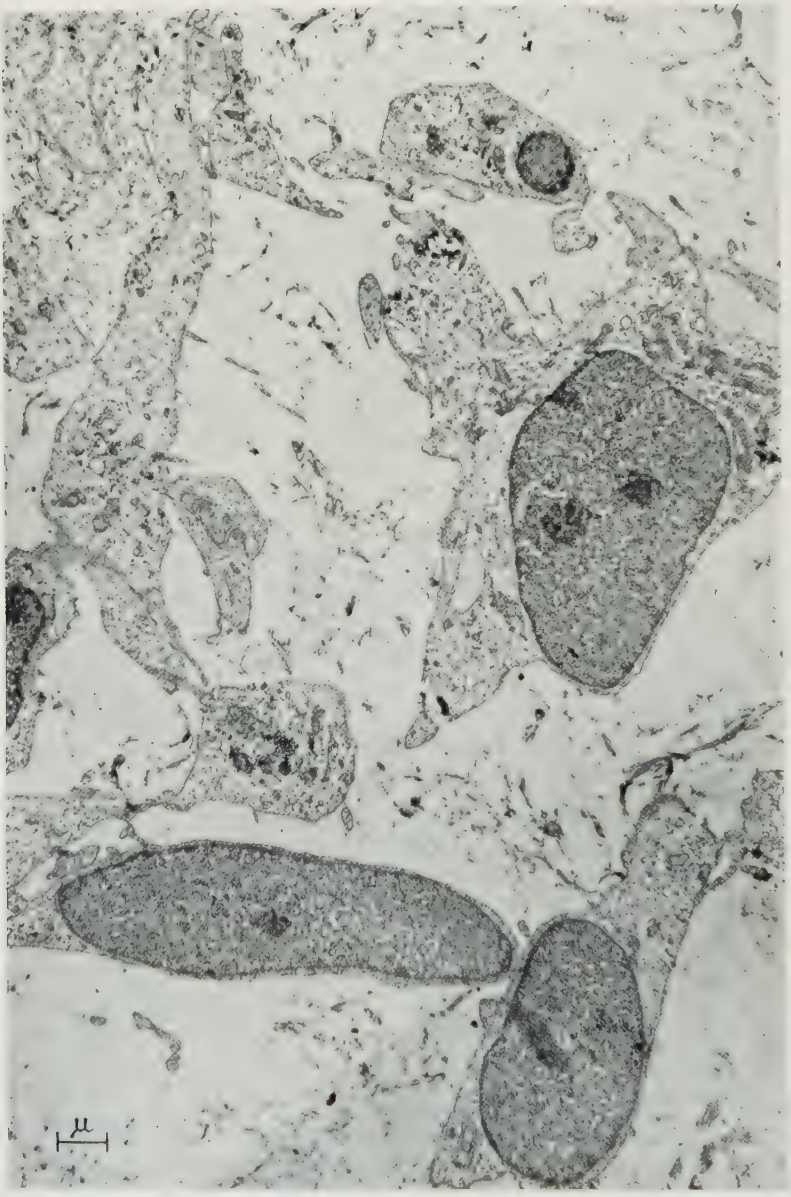


Abb. 1. Übersichtsbild des mesenchymalen Zellretikulums im Corium eines 2 Monate alten menschlichen Embryos. 1:7000

Die Hauptmenge der Zellorganellen liegt in den Fortsätzen. Die starke Ausprägung des endoplasmatischen Retikulums fällt auf; es füllt die Fortsätze oft völlig aus. Die Form dieses Hohlraumsystems wechselt von Zelle zu Zelle. Mitunter besteht es aus eng aneinanderliegenden Doppellamellen, zwischen denen ein

Inhalt nicht mit Sicherheit zu erkennen ist (Abb. 2). Den Lamellen sitzen RNS-Granula (160 Å Durchmesser) in oft regelmäßiger Anordnung auf. An manchen

Abb. 2. Zellfortsätze von Fibroblasten aus der Haut eines 2 Monate alten menschlichen Embryos. Eng aneinanderliegende Doppellamellen des endoplasmatischen Retikulums, Vesiculae und Vakuolen. Im Interzellularraum einzelne Fibrillen und kleine Fibrillenbündel. 1:15000

Stellen sind kleinere Granula von 80—100 Å Größe regellos oder in Wirbeln an den Menbranen gruppiert (Abb. 3). Diese Anordnungen sind besonders an Flachschnitten der Membranen gut darzustellen. Schließlich können auch kleine Vesiculae von 250—400 Å Durchmesser, einzeln oder in Gruppen, an den Membranen beobachtet werden. RNS-Granula und Mikrovesiculae kommen auch frei im Cytoplasma vor. In anderen Zellen sind die Membranen etwas auseinander-

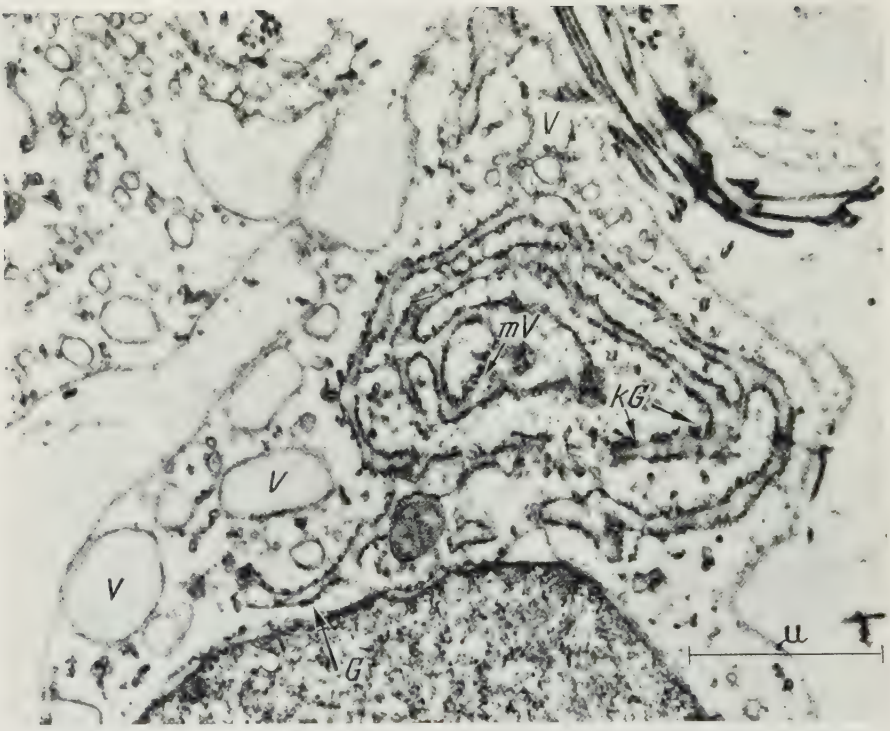


Abb. 3. Fibroblast aus der Haut eines 2 Monate alten Embryos. Hohlräume des endoplasmatischen Retikulums etwas erweitert. Die Membranen mit einem Besatz von RNS-Granula (*G*), kleinen Granula in Gruppen (*kG*) und kleinen Vesiculae (*mV*). Vesiculae und Vakuolen (*V*) frei im Cytoplasma. 1:25000

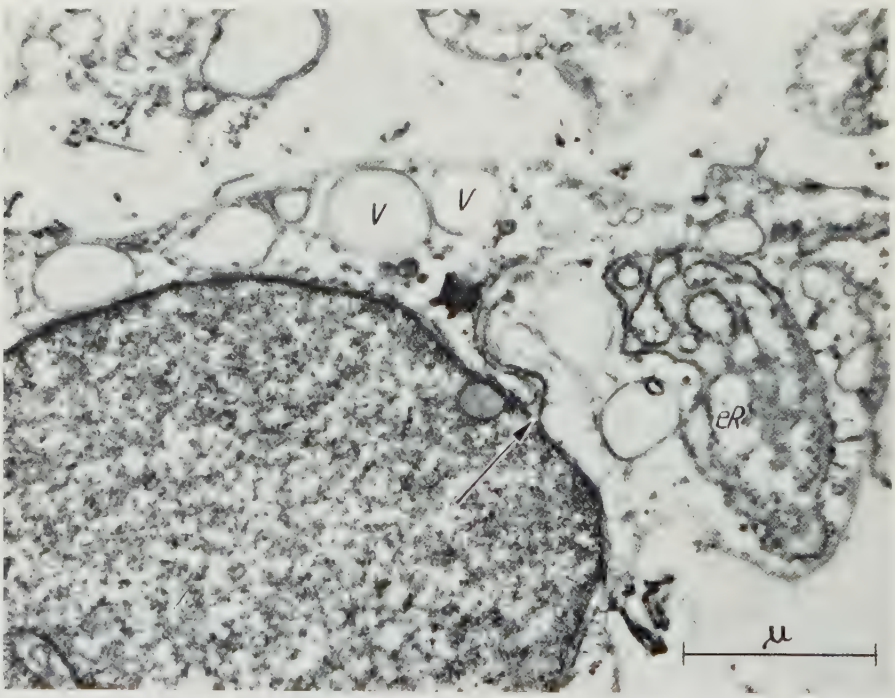


Abb. 4. Fibroblast aus der Haut eines 2 Monate alten Embryos. Endoplasmatisches Retikulum (*eR*), Verbindung der äußeren Kernmembran mit den Membranen des endoplasmatischen Retikulums (Pfeil), Vesiculae und Vakuolen (*V*). 1:25000

gedrängt (Abb. 3); dann ist ein granulärer Inhalt des endoplasmatischen Retikulums zu erkennen. Auch der Raum zwischen den Doppelmembranen des Kernes ist in diesen Zellen manchmal erweitert. Übergänge der äußeren Kernmembran in die Membranen des endoplasmatischen Retikulums können beobachtet werden (Abb. 4). In einzelnen Zellen sind die endoplasmatischen Membranen noch weiter

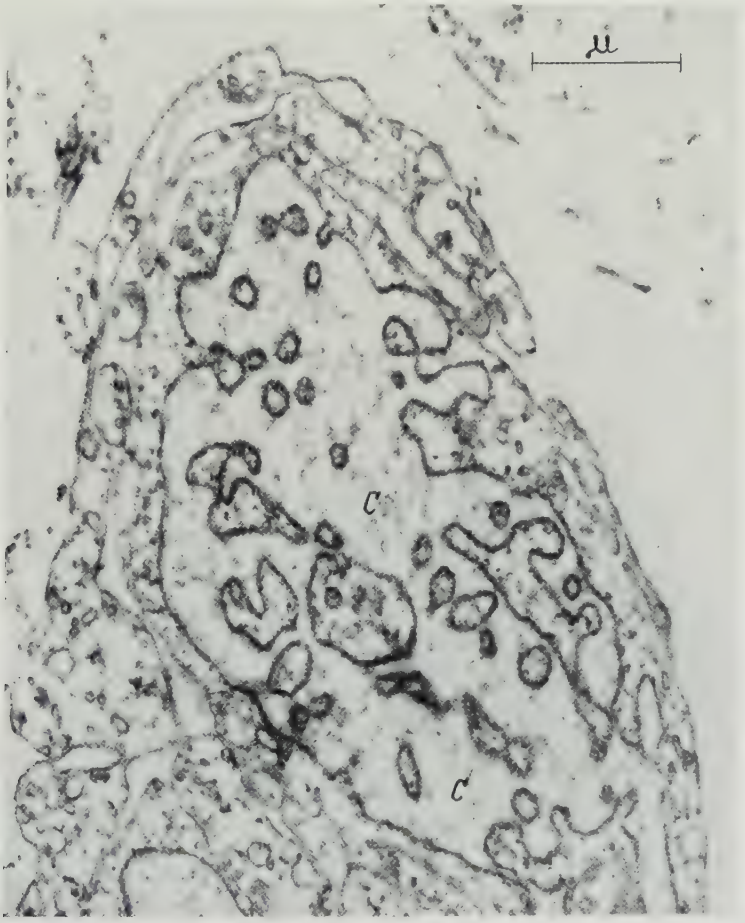


Abb. 5. Zellfortsatz eines Fibroblasten aus der Haut eines 2 Monate alten menschlichen Embryos. Der Hohlraum des endoplasmatischen Retikulums zu einer Zisterne erweitert (*C*). Die begrenzende Membran mit Granulabesatz. 1:20000

auseinandergedrängt, so daß große „Zisternen" entstehen. Diese füllen dann die Zellfortsätze oft derart aus, daß es zu deren Auftreibung kommt. Das Cytoplasma stülpt sich in diese Hohlräume finger- und leistenförmig ein, wodurch teilweise schwer deutbare Bilder entstehen (Abb. 5). Die Hohlräume werden jedoch immer durch eine Membran begrenzt, die mit Granula oder Vesiculae besetzt ist. Der Inhalt dieser Zisternen besteht aus unscharf begrenzten Granula, die in kleinen Ketten zusammenliegen können.

In den Retikulumzellen kommen außer den Strukturen des endoplasmatischen Retikulums noch andere Vesiculae und Vakuolen in großer Zahl vor (Abb. 3).

Die kleinsten Vesiculae entsprechen den beschriebenen Mikrovesiculae, die den Membranen des endoplasmatischen Retikulums aufsitzen. Andere erreichen eine Größe von 6000 Å; sie sitzen dann oft dicht unter der Zellmembran. Die Vesiculae

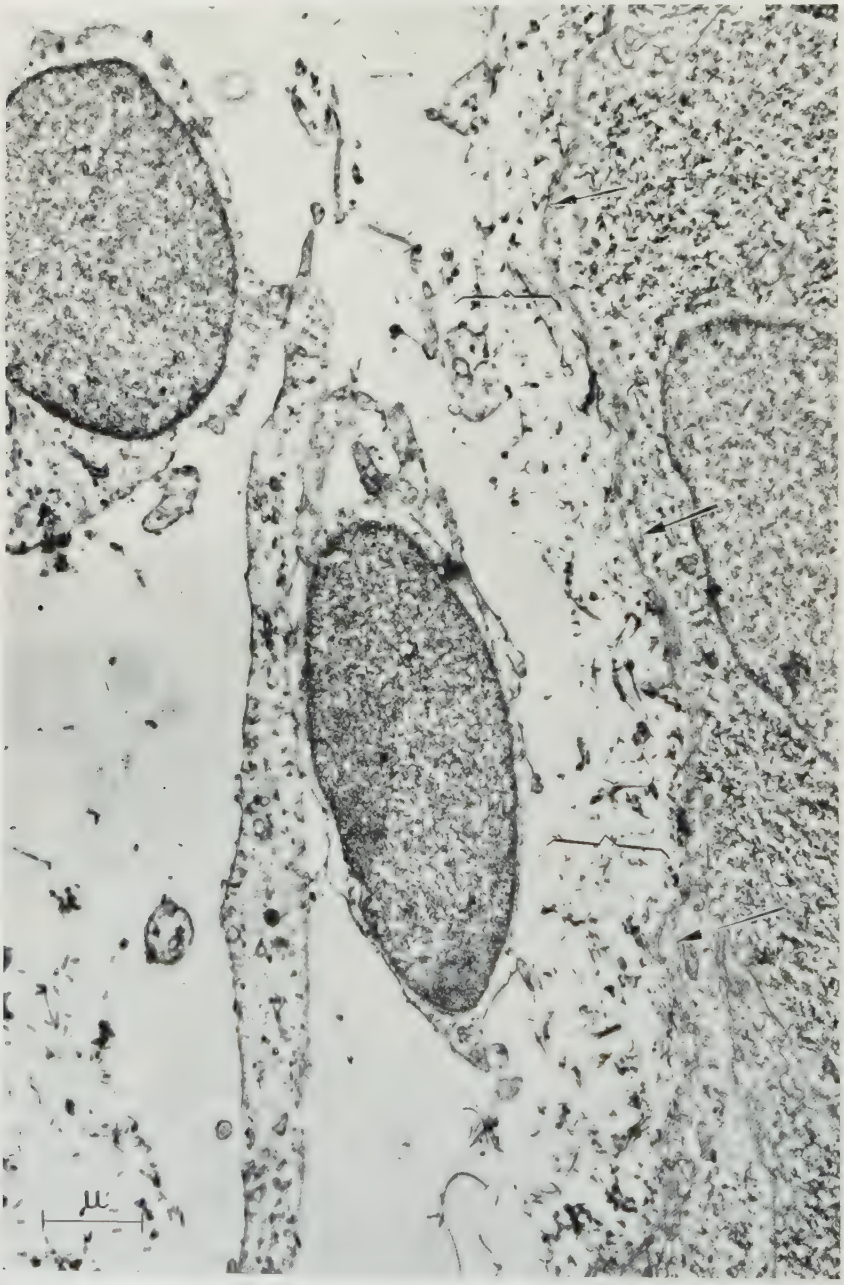


Abb. 6. Epidermis-Bindegewebsgrenze in der Haut eines 2 Monate alten menschlichen Embryos. Parallel der basalen Zellmembran der Epithelzellen die Basalmembran (Pfeil). Darunter eine fibrillenreiche Zone (Klammer). 1:12500

sind immer durch eine glatte Membran begrenzt. Ein Inhalt der Bläschenstrukturen ist nicht nachzuweisen.

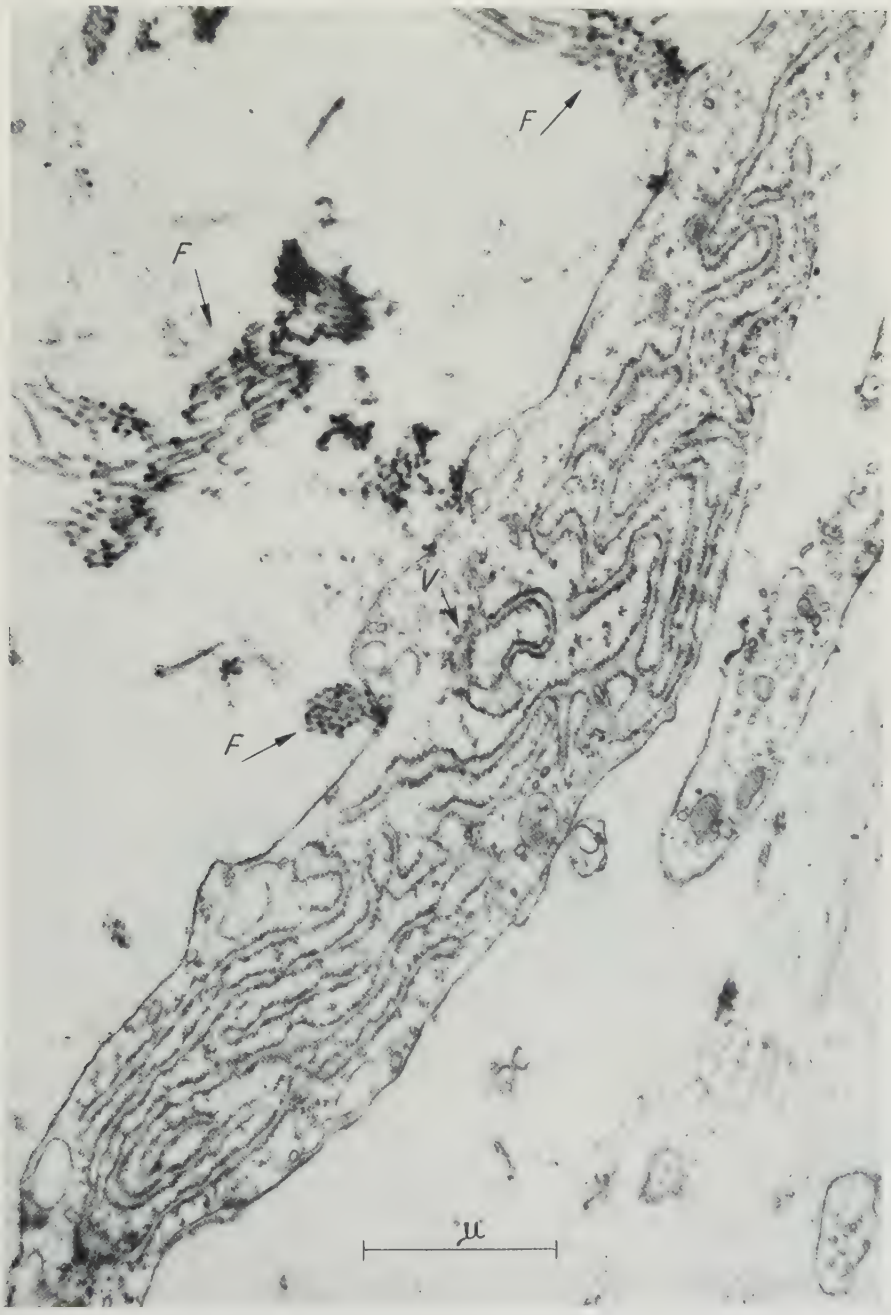


Abb. 7. Fortsatz eines Fibroblasten aus der Haut eines 5 Monate alten menschlichen Embryos. Enganeinanderliegende Doppelmembranen des endoplasmatischen Retikulums mit einem Besatz von Granula und kleinen Vesiculae (*V*). Im Interzellularraum Fibrillenbündel (*F*). 1:25 000

Runde, ovoide oder gegabelte Mitochondrien kommen in geringer Zahl vor. Sie enthalten eine dichte Matrix und nur wenige Cristae, deren Verlauf unregelmäßig sein kann. Andere Strukturen, wie Lipoidtropfen oder Golgi-Apparat kommen nur selten zur Darstellung. Einzelne Zellen fallen durch dichteres Cyto-

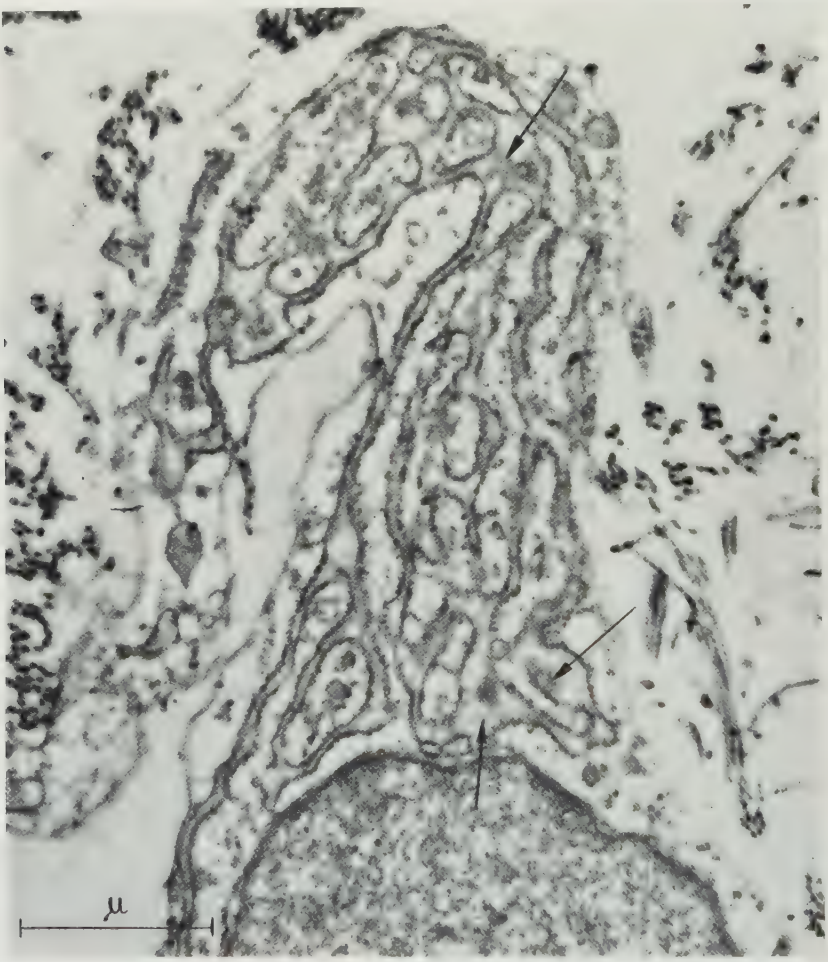


Abb. 8. Fibroblast aus der Haut eines 5 Monate alten menschlichen Embryos. Die Hohlräume des endoplasmatischen Retikulums an manchen Stellen schon etwas erweitert (Pfeil). Im Interzellularraum viele Fibrillen. 1:25000

plasma auf. Sie sind kleiner als die anderen Zellen und enthalten fast keine Zellorganellen.

Fibrilläre Strukturen wurden weder im Zytoplasma noch in den Zisternen der beschriebenen Zellen festgestellt. Elektronenmikroskopisch sichtbare Fibrillen liegen nur außerhalb der Zellmembran.

Im Interzellularraum des Bindegewebes sind nur sehr wenig Fibrillen nachzuweisen (Abb. 1). Sie liegen einzeln oder in Gruppen zu höchstens 5—10 Fibrillen an der Zelloberfläche oder weiter entfernt davon im Interzellularraum. Eine andere Anordnung der Fibrillen findet sich dicht unterhalb der Epidermis. Auf

die basale Zellgrenze der Epithelzellen folgt zuerst die 150—200 Å breite Basalmembran (Abb. 6), unterschichtet durch eine 8000 Å breite Zone mit vielen unregelmäßig verlaufenden Fibrillen, die hier besonders dicht liegen. Die Fibrillendicken im Bereich des Coriums schwanken nur wenig um einen Mittelwert. Die durchschnittliche Dicke beträgt etwa 200 Å. Sie haben bereits Perioden, die je-

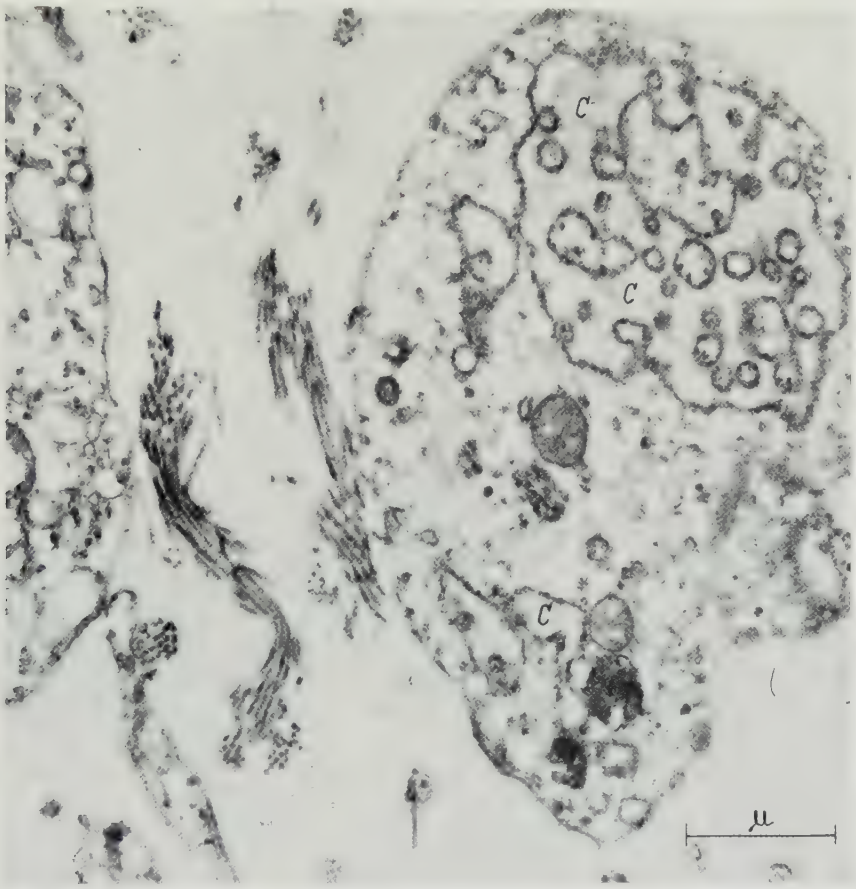


Abb. 9. Fibroblastenfortsatz aus der Haut eines 5 Monate alten menschlichen Embryos. Die Hohlräume des endoplasmatischen Retikulums zu Zisternen erweitert (*C*). Fibrillenbündel im Interzellularraum. 1:20000

doch schwierig zu bestimmen sind. Soweit eine Messung möglich ist, findet man Werte von 300—450 Å.

Auch die Zellen im Bindegewebe der Haut eines *5 Monate alten menschlichen Embryos* fallen durch die außerordentlich starke Ausprägung des endoplasmatischen Retikulums auf. Ebenso findet man eng aneinanderliegende Doppellamellen und aufgeblähte intralamelläre Räume bzw. große Zisternen (Abb. 7—9). Die Zahl der vesikulären Strukturen hat sich jedoch stark verringert. Die Membranen sind zwar noch mit großen und kleinen Granula sowie mit Mikrovesiculae besetzt, doch findet man nur noch selten größere Vesiculae. Die Zellen sind weiter auseinandergerückt, der Interzellularraum ist angefüllt mit Fibrillenbündeln, die

aus 100 Fibrillen bestehen können. Die durchschnittliche Dicke der Fibrillen beträgt jetzt 300 Å. Die Periode ist etwa 400—500 Å lang. Die Zone unterhalb

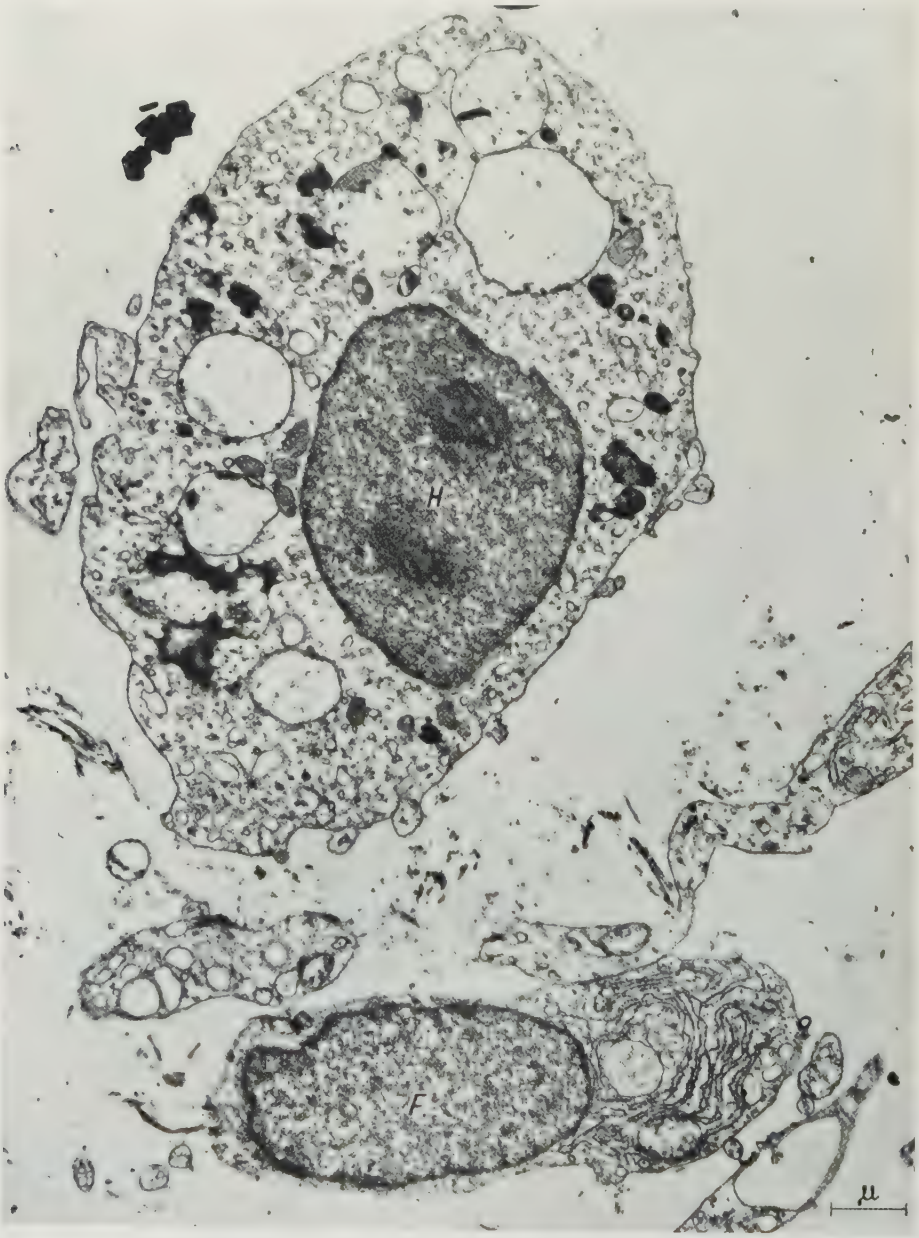


Abb. 10. Übersichtsbild aus dem Coriumgebiet eines 2 Monate alten menschlichen Embryos mit einem Histiocyten (*H*) und einem Fibroblasten (*F*). 1:10000

der Basalmembran ist jetzt noch fibrillenreicher geworden und ihre Ausdehnung erreicht an manchen Stellen die Dicke von 1 μ. Der kleinere Zelltyp mit dichtem Cytoplasma und wenig Zellorganellen kann nicht mehr nachgewiesen werden.

Außer den beschriebenen Zellen kommt noch eine andere Zellart im Hautbindegewebe der menschlichen Embryonen beider Altersstufen vor. Die großen

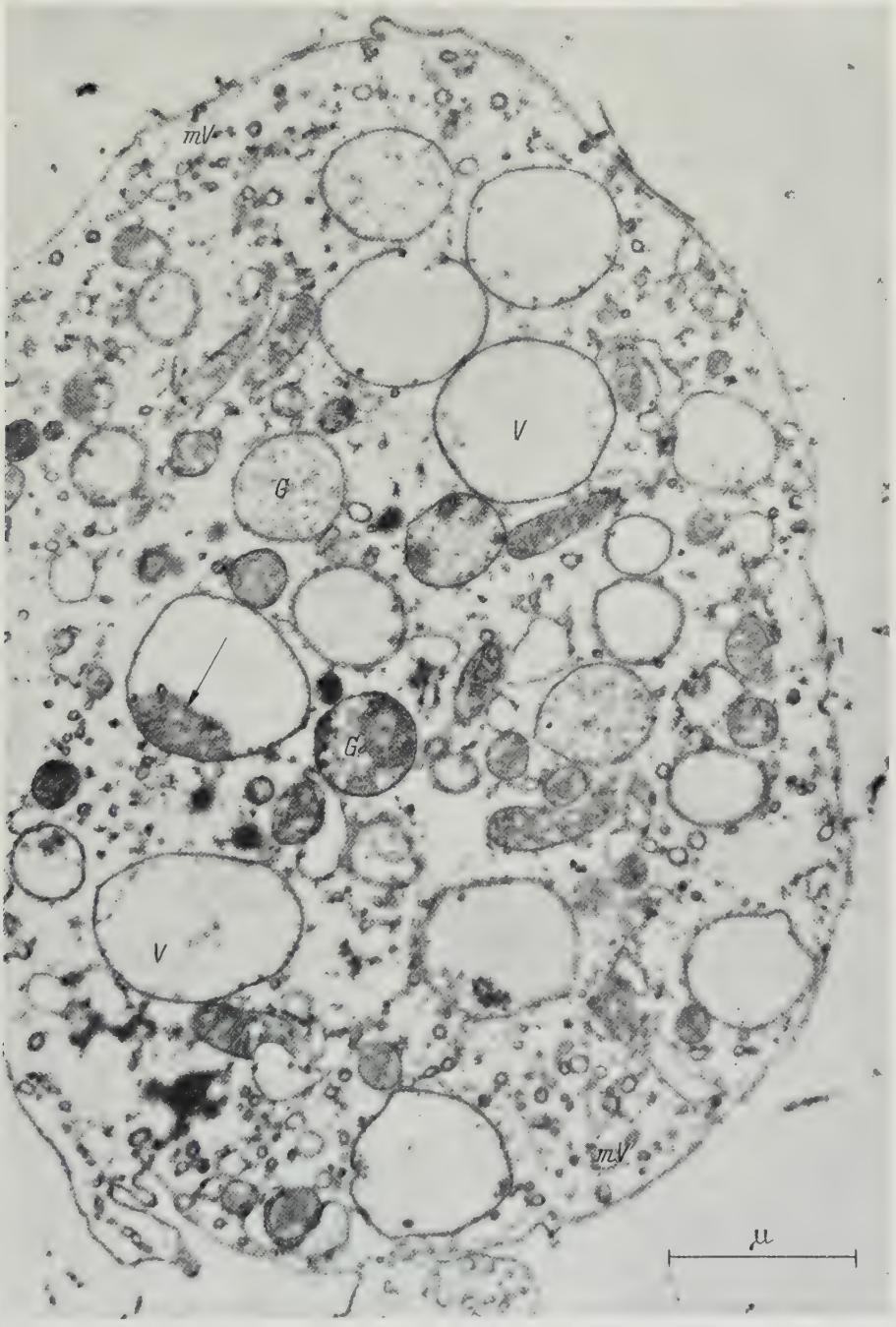


Abb. 11. Anschnitt eines Histiocyten aus der Haut eines 5 Monate alten menschlichen Embryos. Mikrovesiculae (*mV*), Granula mit dichtem und angelockertem Inhalt (*G*), sowie Vakuolen mit randständigem Inhalt (Pfeil) bzw. leer (*V*). 1:25000

runden bzw. ovoiden Zellen sind fortsatzarm (Abb. 10). Der runde Kern ist groß und dicht. Das Cytoplasma enthält massenhaft vakuoläre Strukturen, deren Größe zwischen 400 Å und 1,8 μ schwankt. Sie werden von einer glatten Membran begrenzt und haben einen verschiedenen Inhalt. Die kleineren Vakuolen enthalten dichte Körnchen, die an manchen Stellen eng gepackt sein können. Die größeren Vakuolen sind fast leer und enthalten nur noch einige randständige Konglomerate von granulärem Material (Abb. 11). Die Mitochondrien besitzen eine dichte Matrix und zahlreiche Cristae in regelmäßiger Anordnung. Einige gezackte Lipoidtropfen sind immer zu beobachten.

Diskussion

Für die Synthese des Kollagens müssen nach biochemischen und morphologischen Untersuchungen die *Fibroblasten* verantwortlich gemacht werden. Diese Zellen besitzen ein stark ausgeprägtes endoplasmatisches Retikulum mit einem Besatz von RNS-Granula und ähneln damit eiweißsezernierenden Drüsenzellen. Dies gilt auch für Fibroblasten der menschlichen embryonalen Haut. Man muß also annehmen, daß auch sie das Kollagenmaterial bilden.

Die submikroskopische Morphologie der Proteinsynthese ist in den letzten Jahren von Palade (1956), Siekevitz (1958a—c, 1959) und Porter (1957) dargestellt und zu den chemischen Vorgängen in Beziehung gesetzt worden. Danach werden die Aminosäuren an der Oberfläche der RNS-Granula, die als Matrize wirkt, zu Polypeptidketten vereinigt und anschließend durch einen noch nicht geklärten Mechanismus in das Hohlraumsystem des endoplasmatischen Retikulums eingebracht (Hirsch 1960, Palade 1958, Siekevitz 1959). Die Kollagensynthese in der embryonalen Haut des Menschen verläuft sicher ähnlich. Auch hier fällt der Reichtum der Fibroblasten an Strukturen des endoplasmatischen Retikulums auf. Jedoch verläuft die Abgabe des gebildeten Kollagens anscheinend etwas anders als in den eiweißsezernierenden Drüsenzellen. Die ersten Vorstufen des Kollagens stauen sich im endoplasmatischen Hohlraumsystem an und drängen dessen Membranen weit auseinander, so daß große Zisternen entstehen (Gieseking 1959; S. Fitton Jackson 1957, 1957a; Knese 1959; Schwarz 1959 und 1960; Sheldon 1960). Nur Gieseking findet in den Zisternen und auch frei im Cytoplasma mizellare und fibrilläre Strukturen. Schwarz und Sheldon konnten diese Befunde nicht bestätigen. Bei den Filamenten, die R. Gieseking im Cytoplasma gefunden hat, handelt es sich um ungefähr 100 Å dicke Elemente, die in Zügen parallel geordnet liegen. Diese Filamente zeigen keine Andeutung einer Querstreifung. Das könnte der Beweis für den Beginn einer intrazellulären Kollagenfibrillenbildung sein, wenn das Objekt ein Organ wäre, das nur Fibroblasten enthält. Die embryonale Vogelhaut enthält aber außer Fibroblasten viele Zellen, die sich zu glatten Muskelzellen differenzieren. In glatten Muskelzellen (H. Gansler 1960) und in Zellen der menschlichen embryonalen Aorta, die sich zu Muskelzellen differenzieren (Schwarz 1959), finden sich intrazelluläre Myofilamente von 50—100 Å Dicke. Das Bild ihrer Anordnung, Packung und Lage ähnelt sehr jenem, das R. Gieseking als Anhaltspunkt für eine intrazelluläre Kollagenfibrillenentstehung betrachtet. Wir möchten deshalb die filamentartigen intrazellulären Strukturen als Myofilamente embryonaler glatter Muskelzellen ansehen.

In den Zisternen und im Cytoplasma der Fibroblasten der menschlichen embryonalen Haut sind keine Filamente oder Fibrillen nachzuweisen. Man findet sehr viele Zisternen, die als Ausdruck einer sehr starken Aktivität dieser Zellen gedeutet werden können. Der Ausschleusungsvorgang der gebildeten Eiweißmassen aus den Zisternen bleibt noch umstritten (Knese et al. 1959). Schwarz (1960) und Sheldon (1960) vermuten ein Öffnen der Hohlräume nach außen mit einem anschließenden Ausströmen des Inhaltes in den Interzellularraum. Gieseking (1959) nimmt in Anlehnung an die Exoplasmatheorie von Studnička (1929) einen Zerfall der äußeren Plasmaschichten, damit ein Freiwerden des Zisterneninhaltes und der intraplasmatischen Filamente an. Wir selbst sehen keine Bilder, die zugunsten der Ansicht Giesekings sprechen. Die Vorstellungen von Schwarz und Sheldon werden durch Befunde anderer Autoren unterstützt, die ebenfalls Verbindungen der Hohlräume des endoplasmatischen Retikulums mit der Zelloberfläche nachweisen konnten.

Schwierig ist die Deutung des Zisterneninhaltes. Er besteht aus einem granulären Material. Elektronenmikroskopisch sichtbare Fibrillen sind innerhalb der Zisternen nicht nachzuweisen. Wir möchten uns deshalb der Auffassung der Biochemiker anschließen, die ein monomeres Kollagenmakromolekül, das aus drei in α-Helixform gewundenen Polypeptidketten besteht, als eigentliches Sekretionsprodukt der Fibroblasten ansehen (J. Gross 1956, 1957; A. J. Hodge 1960; A. van den Hooff et al. 1959; D. S. Jackson 1959; F. O. Schmitt 1959). Die elektronenmikroskopische Darstellung dieses Kollagenmakromoleküls ist jedoch schwierig, da es zwar 2800 Å lang, aber nur 15 Å dick ist. Das granuläre Aussehen des Zisterneninhaltes mag dafür sprechen, daß die Kollagenmoleküle in geknäulter Form vorliegen und sich erst später beim Einbau in die Fibrille strecken (F. O. Schmitt 1959). Im extrazellulären Raum lagern sich dann die Kollagenmoleküle zu Fibrillen zusammen oder sie vergrößern den Durchmesser der schon gebildeten Fibrillen durch seitlichen Anbau. Zeichen eines Dickenwachstums durch Zusammenlagerung dünner Fibrillen haben wir niemals beobachten können.

Die Bedeutung der Zellmembran für die Fibrillenbildung bleibt nach unseren Bildern noch unklar. Man sieht zwar Einzelfibrillen und Fibrillenbündel der Zellmembran aufliegen, doch kommen sie auch weit von ihr entfernt vor. Sicher spielt das Plasmalemm eine Rolle bei der Ausrichtung der Fibrillenbündel, wie Schwarz (1960) hinsichtlich der Entstehung des Fibrillenmusters in der Cornea vermutet hat. Dicht unterhalb der Basalmembran verläuft eine breite Zone, die sich durch ihren Reichtum an regellos verlaufenden Fibrillen auszeichnet. Diese Zone *und* die nur elektronenmikroskopisch sichtbare Basalmembran sind das Äquivalent für die z. B. nach PAS-Färbung im Lichtmikroskop sichtbare „Basalmembran". Die Wechselwirkung zwischen Epithel und Bindegewebe scheint die Ausbildung dieser fibrillenreichen Zone zu begünstigen. Ähnliche Vorstellungen entwickeln Salpeter et al. (1960) und Kurtz (1958) auch bezüglich der Entstehung der Basalmembran im Extremitätenregenerat von Urodelen. Vielleicht verstärken hier auch Anhäufungen der Mukopolysaccharide die Ausfällung von Fibrillen. Dafür sprechen die Untersuchungen von Meyer (1960) und oft positive Mukopolysaccharid-Reaktionen.

Die Morphologie der Kittsubstanzbildung ist noch nicht im gleichen Maße wie die Morphologie der Kollagensynthese bearbeitet worden. Es handelt sich

hier hauptsächlich um die Mukopolysaccharide, deren Bildung ebenfalls in die Fibroblasten verlegt wird (Grossfeld et al. 1954; Knese et al. 1959; Meyer 1960 und Schwarz 1960). In den frühen embryonalen Stadien der Haut wird zuerst eine mukopolysaccharidreiche Substanz gebildet, in der dann die ersten Fibrillen entstehen. Infolge des Dickenwachstums der Fibrillen nimmt die Menge der Kittsubstanz relativ ab. Auch ändert sich die Zusammensetzung der darin enthaltenen Mukopolysaccharide (S. Fitton Jackson 1957; Meyer 1960; Schwarz 1960). Loewi und Meyer (1958) fanden in der Haut des Embryos 5—12% Chondroitinsulfat B, 20% Chondroitinsulfat C, 78% Hyaluronsäure und in der Haut des Erwachsenen 64% Chondroitinsulfat B, 0,1% Chondroitinsulfat C und 30% Hyaluronsäure. Die Mukopolysaccharide sollen bei der Fibrillogenese eine wichtige Rolle spielen. Rekonstruktionsversuche weisen die Möglichkeit einer Fibrillenbildung aus Kollagenlösungen durch Mukopolysaccharide nach (Gross et al. 1952; Morrione 1952; Wood et al. 1960; Wood 1960). Meyer (1954) vermutet sogar eine Matrizenwirkung der Mukopolysaccharide bei der Fibrillenbildung, mindestens aber eine Wirkung auf das Packungsmuster der Fibrillenbündel (Schwarz 1960, Sylven 1956, Weiss 1956). Zweifellos sind die Mukopolysaccharide auch zur Stabilisierung der Fibrillen notwendig (D. S. Jackson 1953). Darüber hinaus haben sie noch zahlreiche andere Funktionen im Stoffwechsel des Bindegewebes (Dorfmann et al. 1958, Meyer 1960). Wir müssen also annehmen, daß die Mukopolysaccharide auch in der embryonalen Haut des Menschen bei der Fibrillenbildung eine wesentliche Rolle spielen und daß größere Mengen dieser Stoffe gerade in den Stadien der beginnenden Fibrillenbildung synthetisiert werden.

Der Ort der Synthese der Mukopolysaccharide in der Zelle ist noch umstritten. Schwarz (1960) macht eine kleinvesikuläre Komponente des endoplasmatischen Retikulums für die MP-Bildung in der embryonalen Cornea des Menschen verantwortlich. Knese et al. (1959) verlegen die Synthese in die typischen aufgeblähten Strukturen des endoplasmatischen Retikulums mit einem RNS-Granulabesatz. Auch Merker et al. (1960) konnten in der Mikrosomenfraktion von Hyaluronsäure produzierenden Ascitestumorzellen Hyaluronsäure nachweisen. Auf Grund der hier mitgeteilten Beobachtungen an Fibroblasten der embryonalen Haut des Menschen möchten wir in Übereinstimmung mit Schwarz (1960) die vesikuläre Komponente mit der Bildung bzw. mit Sekretion der Mukopolysaccharide in Zusammenhang bringen. Dafür spricht auch, daß diese Strukturen in den Fibroblasten des jüngeren Embryos in größerer Zahl vorhanden sind, und daß die Mukopolysaccharidbildung in den frühen Stadien besonders groß ist. Wahrscheinlich nehmen die mehr zentral in der Zelle liegenden kleinen Vesiculae an Größe zu und werden zu den peripher liegenden großen Vakuolen, die dann nach außen platzen. Die Entstehung der kleinen Vesiculae ist noch unklar. Schwarz (1960) sieht sie den Membranen des verzweigten endoplasmatischen Retikulums aufsitzen; wir können diese Beobachtung bestätigen.

Die chemische Natur des Kollagens ist in allen Organen gleich, doch wechseln Art und Zusammensetzung der Mukopolysaccharide von Organ zu Organ. Während also die zur Kollagenbildung notwendigen Zellorganellen in den Fibroblasten verschiedener Organe nur quantitative Unterschiede zeigen können, müßten die zur Bildung der Mukopolysaccharide erforderlichen Zellorganellen möglicherweise auch quantitative Unterschiede zeigen. Indessen sind noch zu wenige

Organe auf derartige Differenzen untersucht worden, so daß qualitative Verschiedenheiten des endoplasmatischen Retikulums noch nicht erkannt werden können.

Abgesehen von den beschriebenen Fibroblasten kommen noch zwei andere Zelltypen im Bindegewebe der embryonalen Haut des Menschen vor. Bei einem 2 Monate alten Embryo sind Zellen zu beobachten, die den Fibroblasten ähneln, jedoch kleiner sind, ein dichtes Cytoplasma und nur wenige Zellorganellen besitzen. Bei einem 5 Monate alten Embryo wurden sie nicht mehr gefunden. E. D. Hay (1958) hat ähnliche Zellen im Extremitätenregenerat von *Amblystoma-Larven* beschrieben. Sie hält sie für undifferenzierte Mesenchymzellen, aus denen dann Fibroblasten und Chondroblasten hervorgehen können. Auch die kleinen dichten Zellen in der embryonalen Haut (Mens II) können als undifferenzierte Mesenchymzellen aufgefaßt werden.

In allen untersuchten Embryonalstadien findet sich noch eine weitere, unregelmäßig im Gewebe verteilte Zellart. Diese Zellen sind oft größer als die Fibroblasten und enthalten viele charakteristische Vakuolen und Granula. Sie ähneln den von Bargmann und Knoop (1959) in der menschlichen Plazenta beschriebenen Hofbauer-Zellen. Man rechnet sie den Histiocyten zu, die speichern und phagocytieren sollen. Die Bedeutung dieser Zellen im embryonalen Corium (Mens II und V) ist unbekannt.

Zusammenfassung

Hautstücke aus der Rückengegend von zwei menschlichen Embryonen mit einer Scheitel-Steißlänge von 62 und 128 mm (Mens II und V) wurden elektronenmikroskopisch untersucht.

Das subepidermale Bindegewebe des jüngeren Embryos enthält Fibroblasten mit einem oder mehreren Fortsätzen, zwischen denen einzelne Fibrillen oder kleine Fibrillenbündel liegen. Das endoplasmatische Retikulum dieser Elemente ist stark ausgeprägt. Sein Hohlraumsystem hat in den einzelnen Zellen einen verschiedenen Füllungsgrad. Die Membranen liegen entweder dicht zusammen oder sind mehr oder weniger auseinandergedrängt. Auf diese Weise können große „Zisternen" mit granulärem Inhalt entstehen. Den Membranen sitzen 80—100 Å und 160 Å dicke Granula auf. Außerdem werden Vesiculae von 150 –400 Å Durchmesser an den Membranen beobachtet. Frei im Cytoplasma liegen zahlreiche Vesiculae mit Durchmessern bis zu 6000 Å. Die Dicke der Fibrillen variiert nur wenig; sie beträgt durchschnittlich 200 Å, die Perioden sind 300 –400 Å lang.

Die Fibroblasten in der Haut eines 5 Monate alten Embryos sind den Fibroblasten des jüngeren Embryos sehr ähnlich, doch ist hier die Zahl der vesikulären Strukturen geringer. Im Interzellularraum verlaufen nunmehr Fasern aus 100 und mehr Fibrillen. Die durchschnittliche Fibrillendicke beträgt 300 Å; die Perioden sind 400—500 Å lang.

Das endoplasmatische Retikulum in den Fibroblasten wird für die Kollagensynthese verantwortlich gemacht, die man sich folgendermaßen vorstellen kann: Der Fibroblast liefert wahrscheinlich das Kollagen in Form des monomeren Tropokollagenmoleküls. Dieses Material sammelt sich in den Zisternen an und wird dann nach außen abgegeben. Extrazellulär bauen sich aus diesen Vorstufen Fibrillen auf. Aus diesem Grunde lassen sich Fibrillen auch nur extrazellulär elektronenmikroskopisch nachweisen. Die Zellmembran scheint eine Rolle bei

der Ausrichtung der Fibrillenbündel zu spielen. Die vesikulären Strukturen der Fibroblasten werden mit der Mukopolysaccharidsynthese in Zusammenhang gebracht, deren Bedeutung für die Fibrillogenese diskutiert wird.

Im Coriumbereich menschlicher Embryonen kommen noch zwei andere Zelltypen vor, die für undifferenzierte Mesenchymzellen und Histiozyten gehalten werden.

Literatur

Asboe-Hansen, G.: On the structure and functions of the mast cell. In: Connective tissue, a symposium by Cioms, p. 12—26. Oxford: Blackwell Sci. Publ. 1957.

Bargmann, W., u. A. Knoop: Elektronenmikroskopische Untersuchungen an Plazentarzotten des Menschen. Z. Zellforsch. **50**, 472—493 (1959).

Berenson, G. S., W. M. Lumpkin and V. G. Shipp: Study of the timecourse production of acid mukopolysaccharides by fibroblasts in a synthetic medium. Anat. Rec. **132**, 585—596 (1958).

Bradbury, S., and G. A. Meek: A study of fibrogenesis in the leech, Hirudo medicinalis. Quart. J. micr. Sci. **99**, 143—148 (1958).

Dorfmann, A., and S. Schiller: Effects of hormones on the metabolism of acid mukopolysaccharides of connective tissue. Recent. Progr. Hormon Res. **14** (1958).

Fitton Jackson, S.: Fibrogenesis in vivo and in vitro. In: Nature and structure of collagen, edit. by Randall, p. 140—157. London: Buttworths Sci. Publ. 1953.

— The morphogenesis of avian tendon. Proc. roy. Soc. B **144**, 556—572 (1956).

— The fine structure of developing bone in the embryonic fowl. Proc. roy. Soc. B **146**, 270—280 (1957a).

— Structural problems associated with the formation of collagen fibrils in vivo. In: Connective tissue, a symposium by Cioms, edit. by Tunbridge, p. 77—85. Oxford: Blackwell Sci. Publ. 1957b.

— Persönliche Mitteilung 1958.

—, and R. H. Smith: Fibrogenesis of connective and skeletal tissues in the embryonic fowl. Symp. Soc. exp. Biol. **9**, 89—96 (1955).

— — Studies on biosynthesis of collagen. I. The growth of fowl osteoblasts and the formation of collagen in tissue cultures. J. biophys. biochem. Cytol. **3**, 897—912 (1957).

Gansler, H.: Die Feinstruktur der glatten Muskulatur. IV. Internat. Kongr. für Elektronenmikroskopie, Bd. II, S. 330—332. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1960.

Gersh, J., and H. R. Catchpole: The organisation of ground substance and basement membrane and its significance in tissue injury, disease and growth. Amer. J. Anat. **85**, 457—521 (1949).

Gieseking, R.: Über die faserige Differenzierung des Mesenchyms im frühen Stadium der Entwicklung. Verh. dtsch. Ges. Path. **43**, 56—60 (1959).

— Elektronenoptische Beobachtungen an Fibroblasten. In: Struktur und Stoffwechsel des Bindegewebes, herausgeg. von Hauss u. Losse, S. 131—150. 2. Symp. der Med. Klinik Münster. Stuttgart: Georg Thieme 1960.

Gross, J.: Studies of the fibrogenesis of collagen. Some properties of neutral salt extracts of connective tissue. In: Connective tissue, a symposium by Cioms, p. 45—61. Oxford: Blackwell Sci. Publ. 1957.

— The behavior of collagen units as a model in morphogenesis. J. biophys. biochem. Cytol. **2**, Suppl., 261—274 (1956).

J. H. Highberger and F. O. Schmitt: Some factors involved in the fibrogenesis of collagen in vitro. Proc. Soc. exp. biol. **80**, 462—465 (1952).

— — — Extraction of collagen from connective tissue by neutral salt solution. Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) **41**, 1 (1955).

Grossfeld, H.: Studies on production of hyaluronic acid in tissue culture. Exp. Cell Res. **14**, 213—216 (1958).

— K. Meyer, G. Godman and A. Linker: Mukopolysaccharides produced in tissue culture. J. biophys. biochem. Cytol. **3**, 391—396 (1957).

Hashizume, T.: Studies on the fine structure of the cells in a typical proliferation, with special reference to fibrillogenesis within the cytoplasm. Acta path. jap. **9**, 133—140 (1959).

Hay, E. D.: The fine structure of blastema cells and differentiating cartilage cells in regenerating limbs of amblystoma larvae. J. biophys. biochem. Cytol. **4**, 583—592 (1958).

Hirsch, G. Ch.: Die Fließbandarbeit in der exokrinen Pankreaszelle bei der Produktion von Enzymen. Naturwissenschaften **47**, 25—35 (1960).

Hodge, A. J., and F. O. Schmitt: End chain and side chain interactions in the ordered aggregation of modified collagen macromolecules. In: IV. Internat. Kongr. für Elektronenmikroskopie, Bd. II, S. 343—344. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1960.

Hooff, A. van den, C. I. Levene and J. Gross: Morphologic evidence for collagen changes in chick embryos treated with β-amino-proprionitrile. J. exp. Med. **110**, 1017—1022 (1959).

Jackson, D. S.: Chondroitin sulphuric acid as a factor in the stability of tendon. Biochem. J. **54**, 638—642 (1953).

—, and J. P. Bentley: On significance of the extractable collagens. J. biophys. biochem. Cytol. **7**, 37—42 (1960).

Kajikawa, K.: The structure of mesenchymal fibers as revealed with electron microscope. Medicine (Baltimore) **14**, 685—699 (1957).

— T. Tanii and R. Hirono: Electron microscope studies on skin fibroblasts of the mouse, with special reference to the fibrillogenesis in connective tissue. Acta path. jap. **9**, 61—80 (1959).

Knese, K. H., and A. M. Knoop: Elektronenoptische Untersuchungen über die periostale Osteogenese. Z. Zellforsch. **48**, 455—478 (1958).

— — Elektronenmikroskopische Befunde über die Mukopolysaccharidbildung. 9. Tagg. der Dtsch. Ges. für Elektronenmikroskopie, Freiburg, 1959.

Kurtz, S. M.: The electron microscopy of the developing human renal glomerulus. Exp. Cell Res. **14**, 355—367 (1958).

Loewi, G., and K. Meyer: The acid mukupolysaccharides of embryonic skin. Biochim. biophys. Acta **27**, 453—458 (1958).

Merker, H.-J., H. Greiling u. Th. Günther: Über das Vorkommen und die Bildung von Hyaluronsäure in Ascites-Tumorzellen. Z. Krebsforsch. **63**, 490—496 (1960).

Meyer, K.: The chemistry of the ground substance of connective tissue. In: Connective tissue in health and disease, edit. by G. Asboe-Hansen, p. 54—69. Copenhagen: Munksgaard 1954.

— Struktur und Biologie der Polysaccharidsulfate im Bindegewebe. In: Struktur und Stoffwechsel des Bindegewebes, herausgeg. von W. H. Hauss u. H. Losse, S. 12—19. Stuttgart: Georg Thieme 1960.

Morrione, Th. G.: The formation of collagen fibers by the action of heparin on soluble collagen. An electron microscopic study. J. exp. Med. **96**, 107—113 (1952).

Nemetschek, Th.: Zur Morphologie von Kollagen: Querstruktur, Elementarfibrillen und Anordnung im Zellverband. Z. Naturforsch. **13** b, 225—234 (1958).

Palade, G. E.: The endoplasmic reticulum. J. biophys. biochem. Cytol. **2**, Suppl., 85—98 (1956).

— Functional changes in structure of cell components. In: Subcellular particles, edit. by T. Hayashi, p. 64—83. New York: Ronald Press Company 1959.

Policard, A., A. Collet, S. Prègermain et C. Reuet: Rapports morphologiques entre fibrilles collagènes primaires et cellules conjonctives. Bull. Micr. appl., II. s. **7**, 73—75 (1957).

Porter, K. R.: Repair processes in connective tissues. In: Connective tissues, edit. by Ch. Ragan, p. 126—158. 2nd J. Macy, Jr. Foundation Conference. J. Macy, Jr. Foundation, New York, 1952.

—, and G. E. Palade: Studies on the endoplasmic reticulum. III. Its form and distribution in striated muscle cells. J. biophys. biochem. Cytol. **3**, 269—300 (1957).

—, and G. E. Pappas: Collagen formation by fibroblasts of the chick embryo dermis. J. biophys. biochem. Cytol. **5**, 153—166 (1959).

Robbins, W. C., R. F. Watson, G. D. Pappas and K. R. Porter: Some effects of Anti-Collagen-Serum on collagen formation in tissue culture: A preliminary report. J. biophys. biochem. Cytol. **1**, 381—384 (1955).

Salpeter, M. M., and M. Singer: Differentation of the submicroscopic adepidermal membran during limb regeneration in adult triturus, including a note on the use of the term basement membrane. Anat. Rec. **136**, 27—40 (1960).

Schmitt, F. O.: The macromolecular basis of collagen structure. In: Connective tissuel Thrombosis and Atherosklerosis, edit. by H. Page, p. 43—66. New York and London: Academic press 1959.

Schwarz, W.: Morphology and differentation of the connective tissue fibres. In: Connective tissue, a symposium by Cioms, edit. by Tunbridge, p. 144—156. Oxford: Blackwel. Sci. Publ. 1957.

— Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die Bildung der elastischen Membranen in der embryonalen Aorta des Menschen. Verh. Anat. Ges. Zürich 1959.

— Electron microscopical studies of the fibrillogenesis in the human cornea. IV. Internat. Kongr. der Anatomen in New York (im Druck).

—, u. H.-J. Merker: Lichtmikroskopische und elektronenoptische Untersuchungen über die Entwicklung der entodermalen und mesenchymalen Lungenanlage des Menschen. Beitr. Silikoseforsch. 3. Sonderbd. 1958, S. 103—117.

— — A. Jahnke u. M. Hofmann: Wachstum und Altern des Bindegewebes. Berl. Med. 88—90 (1958), Festschrift.

Sheldon, H.: Observations on the production of matrix by bone and cartilage cells. Europäischer Elektronenmikroskopiker-Kongr. in Delft 1960 (im Druck).

—, and R. A. Robinson: Electron microscope studies of crystal-collagen relationships in bone. 4. The occurrence of crystals within collagen fibrils. J. biophys. biochem. Cytol. **3**, 1011—1015 (1957).

Siekevitz, P.: On the meaning of intracellular structure for metabolic regulation. Ciba Foundation Symposium on cell metabolism, 1959, p. 17—45.

—, and G. E. Palade: A cytochemical study on the pancreas of guinea pig. I. Isolation and enzymatic activities of cell fraction. J. biophys. biochem. Cytol. **4**, 203—218 (1958a).

— — II. Functional variations in enzymatic activity of microsomes. J. biophys. biochem. Cytol. **4**, 309—318 (1958b).

— — III. In vivo incorporation of leucine-1-C^{14} into the proteine of cell fractions. J. biophys. biochem. Cytol. **4**, 557—566 (1958c).

Snellman, O., R. Ottoson and B. Sylvén: On the nature of the metachromatic ground substance polysaccharides of healing wounds. In: Connective tissue, a symposium by Cioms, edit. by Tunbridge, p. 136—143. Oxford: Blackwell Sci. Publ. 1957.

Studnička, F. K.: Die Organisation der lebenden Masse. In: Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen, herausgeg. von W. v. Möllendorff, Bd. 1, Teil 1, S. 421—568. 1929.

Sylvén, B.: The ground substance of connective tissue and cartilage. In: The biochemistry and physiology of bone, edit. by G. H. Bourne, p. 53—80. New York: Academic Press 1956.

Wassermann, F.: Über die strukturellen Grundlagen der Chemie und des Stoffwechsels der Stützsubstanzen. In: Chemie und Stoffwechsel von Binde- und Knochengewebe. 7. Colloquium für physiol. Chemie 1956, S. 1—24. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1956.

— The intercellular components of connective tissue: origin, structure and interrelationsship of fibers and ground substance. Erg. Anat. Entwickl.-Gesch. **35**, 240—333 (1956).

— Fibrillogenesis in the regenerating rat tendon with special reference to growth and composition of the collagenous fibril. Amer. J. Anat. **94**, 399—438 (1954).

— Die Feinstruktur des Bindegewebes in gegenwärtiger Sicht als Grundlage der Funktionen und der pathologischen Veränderungen. Verh. dtsch. Ges. inn. Med. 65, 852—862 (1959).

—, and L. Kubota: Observations on fibrillogenesis in the connective tissue of the chick embryo with the acid of silver impregnation. J. biophys. biochem. Cytol. **2**, Suppl., 67—72 (1956).

Weiss, P., and W. Ferris: The basement lamella of amphibian skin. J. biophys. biochem. Cytol. **2**, Suppl., 275—282 (1956).

Wood, G. C.: The formation of fibrils from collagen solutions. III. Effect of chondroitin sulphate and other naturally occuring polyanions on the rate of formation. Biochem. J. **75**, 605—612 (1960).

—, and M. K. Keech: The formation of fibrils from collagen solutions. I. The effect of experimental conditions: kinetic and electron-microscope studies. Biochem. J. **75**, 588—598 (1960).

Dr. H.-J. Merker, Forschungsabteilung für Elektronenmikroskopie der Freien Universität Berlin, Berlin-Dahlem, Königin-Luisen Str. 3

Aufnahmebedingungen

I. Sachliche Anforderungen

1. Der Inhalt der Arbeit muß dem Gebiet der Zeitschrift angehören.

2. Die Arbeit muß wissenschaftlich wertvoll sein und Neues bringen. Bloße Bestätigungen bereits anerkannter Befunde können, wenn überhaupt, nur in kürzester Form aufgenommen werden. Dasselbe gilt von Versuchen und Beobachtungen, die ein positives Resultat nicht ergeben haben. Arbeiten, rein referierenden Inhalts werden abgelehnt, vorläufige Mitteilungen nur ausnahmsweise aufgenommen. Polemiken sind zu vermeiden, kurze Richtigstellung der Tatbestände ist zulässig. Aufsätze spekulativen Inhalts sind nur dann geeignet, wenn sie durch neue Gesichtspunkte die Forschung anregen.

II. Formelle Anforderungen

1. Das Manuskript muß leicht leserlich (möglichst in Maschinenschrift) geschrieben sein. Die Abbildungsvorlagen sind auf besonderen Blättern beizufügen. Diktierte Arbeiten bedürfen der stilistischen Durcharbeitung zwecks Vermeidung von weitschweifiger und unsorgfältiger Darstellung. Absätze sind nur zulässig, wenn mit ihnen ein neuer Gedankengang beginnt.

2. Die Arbeiten müssen *kurz* und stilistisch einwandfrei geschrieben sein. Ausführliche historische Einleitungen sind zu vermeiden. Die Fragestellung kann durch wenige Sätze klargelegt werden. Der Anschluß an frühere Behandlungen des Themas ist durch Hinweis auf die letzten Literaturzusammenstellungen (in Monographien, „Ergebnissen", Handbüchern) herzustellen.

3. Der Weg, auf dem die Resultate gewonnen wurden, muß klar erkennbar sein; jedoch hat eine ausführliche Darstellung der Methodik nur dann Wert, wenn sie wesentlich Neues enthält.

4. Jeder Arbeit ist eine kurze Zusammenfassung (höchstens 1 Seite) der wesentlichen Ergebnisse anzufügen, die in einer der Kongreßsprachen abgefaßt sein kann.

5. Von jeder Versuchsart bzw. jedem Tatsachenbestand ist in der Regel nur *ein* Protokoll im Telegrammstil als Beispiel in knappster Form mitzuteilen. Das übrige Beweismaterial kann im Text oder, wenn dies nicht zu umgehen ist, in Tabellenform gebracht werden; dabei müssen aber umfangreiche tabellarische Zusammenstellungen unbedingt vermieden werden. Es wird empfohlen, durch eine Fußnote daraufhinzuweisen, in welchem Institut das gesamte Beweismaterial eingesehen oder angefordert werden kann.

6. Die *Abbildungen* sind auf das unbedingt Notwendige zu beschränken. Kurven, Diagramme usw., die nur zur Illustration von Befunden dienen und ohne weiteres im Text beschrieben werden können, werden zurückgewiesen. Knappe, klare Abbildungsunterschriften (Legenden) erübrigen nochmalige Beschreibung im Text. Sie sind getrennt von den Abbildungen dem Manuskript im Anschluß an das Literaturverzeichnis beizufügen. Unzulässig ist die *doppelte* Darstellung in Abbildung *und* Kurve. Bereits veröffentlichte Abbildungen können nicht wiederholt werden. Ausnahmen hiervon sind nur in besonders begründeten Fällen möglich. *Farbige* Bilder können in der Regel keine Aufnahme finden. Für Kurven oder Schwarzweißzeichnungen, die als Strichätzung reproduziert werden können, genügt die Ablieferung sauberer, klarer Skizzen, die vom Verlag umgezeichnet werden. Bei Halbtonbildern (Photos, Mikrophotos, Halbtonzeichnungen) sind saubere, scharfe und tonwertreiche Originalvorlagen (Hochglanzabzüge von Originalphotographien) notwendig. Besondere Wünsche des Autors hinsichtlich des linearen Verkleinerungs- und Vergrößerungsmaßstabes der Vorlagen sollen vermerkt werden.

Die *Beschriftung* der Abbildungen mit Buchstaben oder Ziffern erfolgt durch den Verlag. Die Hinweise hierfür sollen keinesfalls in der Abbildung selbst, sondern auf einem darüberliegenden transparenten Deckblatt angegeben werden. Dort sind auch Abstriche oder gewünschte Bildausschnitte zu bezeichnen. Hinweispfeile oder -linien sind ebenfalls auf dem Deckblatt anzubringen, wobei die Endpunkte durch Einstich mit einer feinen Nadel auf der darunterliegenden Originalvorlage fixiert werden sollen. Es empfiehlt sich ferner, auf dem Deckblatt wichtige Abbildungspartien zu kennzeichnen, damit die Kunstanstalt bei der Ätzung ihr besonderes Augenmerk darauf richten kann.

7. Literaturangaben sollen Autorennamen, vollständigen Titel der Arbeit, Zeitschrift, Band- und Seitenzahl sowie Jahreszahl umfassen [z.B. Böke, W.: Untersuchungen des Linsenepithels mit dem Phasenkontrastmikroskop. Z. Zellforsch. 38, 428—454 (1953)]. Die Literaturangaben sind am Schluß der Arbeit nach den Autorennamen alphabetisch anzuordnen und nicht zu numerieren. Werden mehrere Arbeiten des gleichen Autors zitiert, so ist an der betreffenden Stelle im Text eine in Klammern gesetzte 1, 2 bzw. 3 hinter dem Autorennamen einzufügen. Im Literaturverzeichnis steht diese Zahl, ebenfalls in Klammern gesetzt, vor der betreffenden Arbeit. Bücher müssen mit vollem Titel, Auflage, Ort, Verlag und Jahr zitiert werden.

8. Methodik, Protokolle und weniger wichtige Teile des Textes sind für *Kleindruck* vorzumerken. Die Lesbarkeit des Wesentlichen wird hierdurch gehoben.

9. Doppeltitel sind aus bibliographischen Gründen unerwünscht. Das gilt insbesondere, wenn die Autoren in Ober- und Untertitel einer Arbeit nicht die gleichen sind.

10. An *Dissertationen*, soweit deren Aufnahme überhaupt zulässig erscheint, werden nach Form und Inhalt dieselben Anforderungen gestellt wie an andere Arbeiten. Danksagungen an Institutsleiter, Dozenten usw. werden nicht abgedruckt. Zulässig sind einzeilige Fußnoten mit der Mitteilung, wer die Arbeit angeregt und geleitet oder wer die Mittel dazu gegeben hat. *Festschriften* und *Monographien* gehören nicht in den Rahmen einer Zeitschrift.

HERMANN BRAUS

Anatomie des Menschen

Ein Lehrbuch für Studierende und Ärzte

fortgeführt von CURT ELZE

Dritter Band: **Periphere Leitungsbahnen II. Centrales Nervensystem. Sinnesorgane**

Zweite Auflage. Mit 545 zum Teil farbigen Abbildungen. VIII, 832 Seiten Gr.-8°. 1960.

Ganzleinen DM 69,—

INHALTSÜBERSICHT

Periphere Leitungsbahnen. II. Teil. Verlauf der Gefäße und Nerven im Körper: Allgemeines. Leitungsbahnen des Rumpfes. Die Leitungsbahnen der oberen Extremität. Die Leitungsbahnen der unteren Extremität. Zentrale Vertretung des Rumpfes und der Extremitäten. Die Leitungsbahnen des Kopfes. Lymphgefäßsystem. Vegetatives Nervensystem. Die Nebenorgane des vegetativen Nervensystems, die Paraganglien · Centrales Nervensystem: Bauplan und Bauelemente des Centralnervensystems. Das Rückenmark: Medulla spinalis. Gehirn, Cerebrum. Hüllen, Meninges, und Gefäße des Centralnervensystems · Sinnesorgane (Ästhesiologie): Sehorgan, Organon visus. Das Gleichgewichts- und Gehörorgan, Organum status et auditus, Organum labyrinthi. Geschmacksorgan, Organon gustus. Geruchsorgan, Organon olfactus. Die Haut, Integumentum commune. Apparate der Tiefensensibilität · Sachverzeichnis für Text und Abbildungen.

Früher erschienen:

Erster Band: **Bewegungsapparat**

3. Aufl. Mit 399 z. gr. Tl. farbigen Abbildungen. XI, 789 Seiten Gr.-8°. 1954.
Ganzleinen DM 69,—

Zweiter Band: **Eingeweide (einschließlich periphere Leitungsbahnen I)**

3. Aufl. Mit 360 z. gr. Tl. farbigen Abbildungen. VI, 680 Seiten Gr.-8°. 1956.
Ganzleinen DM 69,—

SPRINGER-VERLAG · BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG

Springer-Verlag, Berlin · Göttingen · Heidelberg — Druck der Universitätsdruckerei H. Stürtz AG., Würzburg
Printed in Germany